

# 双壳类生物免疫力的研究进展

## Advances in the studies on immunity of bivalves

王文琪, 徐申波, 姜令绪, 张玉娜, 李 建

(莱阳农学院, 山东 青岛 266109)

中图分类号: S944.3 文献标识码: A 文章编号: 1000-3096(2006)09-0070-06

在自然条件下, 双壳类生物和其它水产养殖动物一样, 在其生活的环境中存在大量的不同种类的病原生物, 但在一般情况下, 并不是说所有的病原生物都能够感染双壳类生物并造成危害, 这主要是因为双壳类生物具有一套比较完善的防御系统, 能够抵御外来病原生物的侵扰, 使其免受感染。近年来, 频繁发生的菲律宾蛤仔、栉孔扇贝大规模死亡事件给中国的贝类养殖业造成了重大损失, 随着病害问题成为困扰双壳类生物养殖发展的“瓶颈”, 而免疫学研究是提高机体免疫力和进行疾病防治的基础, 因此许多学者对双壳类生物免疫机制进行了有益的探索和深入的研究。

贝类生物免疫学的研究最早是 Haeckel 于 1862 年开始的, Stauber 和 Feng<sup>[1]</sup>从 1950 年开始跟踪观察颗粒和可溶性的外源物质在长牡蛎(*Crassostrea gigas* Thunberg)体内的变化, 从而真正开创了贝类生物免疫学领域。20 世纪 60~70 年代, 贝类生物免疫学主要是对其血细胞分类和各种免疫过程中体液因子的功能进行研究<sup>[2-10]</sup>。20 世纪 80 年代以后, 除继续对贝类血细胞的结构和功能进行研究外, 血淋巴中各种参与免疫防御的体液因子相继被识破和分离, 发现了高等动物中细胞因子样类似物, 这些工作开创了双壳类生物免疫学研究的新局面<sup>[11-21]</sup>。作者就双壳类生物免疫机制、环境因子与病原及机体免疫力的相互影响等进行综述, 以期对双壳类生物免疫学、毒理学研究和养殖疾病防治提供科学依据。

### 1 双壳类生物机体免疫

双壳类生物的免疫机制属于非特异性免疫, 其免疫防御反应包括血细胞免疫和体液免疫, 其中, 血细

胞免疫主要包括血细胞的吞噬、胞囊和胞吐作用, 双壳类生物体液免疫由于其体液中不含有 T 淋巴细胞和免疫球蛋白等特异抗体, 主要是由血细胞释放到血淋巴中的一些活性因子如溶菌酶、酚氧化酶等来发挥作用的。

#### 1.1 血细胞免疫

##### 1.1.1 血细胞分类

双壳类生物血细胞在免疫防御中起着主要作用, 只有研究血细胞的分类、形态、结构、功能, 才能更好地了解它们的防御机制。关于双壳类生物血细胞的分类和命名, 由于研究种类、方法和分类标准不同而有所分歧, 到目前为止, 对双壳类生物的血细胞还没有完善的统一分类标准。

双壳类生物血细胞可按形态进行分类, 如 Cheng 等<sup>[12]</sup>将长牡蛎和硬壳蛤(*Mercenaria mercenaria* (Linnaeus, 1758))的血细胞分为三类: 颗粒细胞、透明细胞和纤维细胞; Ruddell<sup>[3]</sup>将长牡蛎血细胞分为三种类型: 无颗粒的阿米巴状细胞, 嗜碱性粒细胞和嗜酸性粒细胞; Moore 等<sup>[5]</sup>将紫贻贝(*Mytilus edulis*)血细胞分为两大类: 嗜碱性细胞没有颗粒; 嗜酸性颗粒细胞有颗粒; Cheney<sup>[2]</sup>根据多种文献, 将瓣鳃纲软体动物的血细胞分为八大类: 红细胞、普通白细胞、透明白细胞、成

收稿日期: 2005-10-13; 修回日期: 2006-01-11

基金项目: 青岛市自然科学基金资助项目(03-3-hh-13, 05-1-JC-87)

作者简介: 王文琪(1969-)女, 山东莱阳人, 博士, 副教授, 研究方向: 水产养殖, 电话: 0532-86080565, 13730901370, E-mail: wenqiwang@lyac.edu.cn

白细胞、嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞、嗜中性粒细胞、褐色细胞；李太武等<sup>[22]</sup>根据染色结果，将皱纹盘鲍血淋巴中的细胞分为三种：第一种细胞大，圆球状，核较小，细胞质中的颗粒多；第二种细胞较大，卵圆形，核较大，细胞质中颗粒少，较透明；第三种细胞较小，圆形，核圆形，染色深，细胞质少，较透明。张维嵩等<sup>[23]</sup>通过对海湾扇贝 (*Argopecten irradians*) 血细胞形态学比较研究将其血细胞分为透明细胞和颗粒细胞两类。也有的学者按血细胞中的内源酶、抗原性和凝集素等分类。近年来，有些研究者应用现代免疫学和生物化学以及物理学的新技术、新方法对血细胞进行分类，如 Maria<sup>[24]</sup>根据染色性质和血细胞抗原性，用单克隆抗体将贻贝 (*Mytilus galloprovincialis*) 的血细胞分成三类：透明细胞，大颗粒细胞和小颗粒细胞。

#### 1.1.2 血细胞功能

贝类机体的免疫防御主要依赖于血细胞，血细胞具有吞噬和包裹作用，并且能合成和释放多种免疫因子参与体液免疫，所以，贝类血细胞既是细胞免疫的担当者，又是体液免疫的提供者。Smith<sup>[25-26]</sup>指出贝类血细胞参与吞噬、血细胞凝集、结节形成、炎症和伤口修复等免疫反应；Feng<sup>[1]</sup>观察到牡蛎血细胞对外来异物以及可溶性蛋白质有吞噬作用，并指出了这种吞噬作用在贝类防御机制中的重要意义；Moore 等<sup>[4]</sup>则进一步证明酵母细胞被吞入细胞质液泡中，并发现细胞中的小颗粒血细胞的吞噬活性比大颗粒血细胞的活性大；孙虎山<sup>[27]</sup>发现栉孔扇贝血细胞的吞噬作用，并在扫描电镜下对其进行了研究。可见，吞噬作用是贝类的一种重要的免疫防御反应。

包裹作用也是贝类血细胞的一种防御反应。Bayne<sup>[11]</sup>发现在外界异物比贝类血细胞大得多的情况下，例如寄生虫、坏死组织、外源植入物等，贝类血细胞表现出许多血细胞在异物表面上完全伸展，扁平化，共同将异物包裹起来，形成类似于包裹的结构，从而将异物隔离的现象，并将之称为包裹作用。所以，贝类对较大异物的入侵能够同时动员许多血细胞共同完成包裹作用从而达到防御机能。

#### 1.1.3 贝类血细胞的数量变化

贝类血细胞的数量变化在贝类的免疫防御中起一定的作用。有学者用弧菌 P1 菌株来诱导 *Ruditapes philippinarum* 和 *Ruditapes decussatus* 两种贝类，72 h 后发现其血细胞数目都有所增加，且发现某些血细胞

胞质颗粒中存在着被吞噬的弧菌细胞<sup>[28]</sup>；有些学者用大肠杆菌、ConA 等刺激扇贝，发现扇贝血细胞数量明显增加，并且血细胞中有 O<sub>2</sub> 释放，同样把大肠杆菌、ConA 放入扇贝离体的血细胞中，发现血细胞数量也出现增加的现象<sup>[29]</sup>，有关其作用机理还未见相关报导。

#### 1.1.4 不同种类血细胞的免疫功能

虽然对贝类血细胞的种类划分还未统一，但不同种类的血细胞在贝类免疫防御中的不同作用陆续有了报导。Pipe 等<sup>[30]</sup>通过电镜观察，发现贝类血细胞的吞噬作用主要是颗粒细胞完成的，并且其吞噬作用是伴随颗粒血细胞的脱颗粒作用而进行的；石安静<sup>[31]</sup>等在三角帆蚌 (*Hyriopsis cumingii* (Lea)) 珍珠囊形成的研究中，将石蜡核与外套膜小片同时植入受体蚌的结缔组织中，发现透明血细胞形成细胞鞘，并在此基础上产生珍珠囊上皮的再生。Amadeu 等<sup>[32]</sup>研究了透明血细胞分泌的胞外基质在上皮细胞再生中的作用，通过超微结构观察发现透明血细胞是伤口修复的关键细胞，它分泌的胞外基质影响着上皮细胞的迁移和再生。

#### 1.2 体液免疫

贝类的体液免疫主要指由血细胞释放到血淋巴或存在于血淋巴中的活性因子譬如溶菌酶、酚氧化酶 (PO)、酸性磷酸酶 (ACP)、碱性磷酸酶 (ALP)、超氧化物歧化酶 (SOD)、一氧化氮合酶和抗菌肽等参与和完成的免疫防御反应。

溶菌酶是一种专门作用于微生物细胞壁的水解酶，又称胞壁质酶。据李义报道溶菌酶是非特异性免疫系统的重要组成部分，是一种碱性蛋白，广泛存在于无脊椎动物体内的多种组织和体液中，能水解革兰氏阳性菌细胞壁中粘肽的乙酰胺基多糖并使之裂解而释放出来，形成一个水解酶体系，破坏和消除侵入体内的异物，起到一定的机体防御功能。Cheng<sup>[10,17]</sup>研究发现溶菌酶在贝类的炎症反应中起核心作用。刘世良等<sup>[33]</sup>报道指出溶菌酶能够溶解病原体的细胞壁，并且部分或者全部抑制病原菌的生长与繁殖。Victor<sup>[34]</sup>报导扇贝的血淋巴中存在溶菌活力，在环境胁迫下出现了降低活性的现象，Smith<sup>[26]</sup>指出免疫多糖可以诱导扇贝血淋巴溶菌活力的升高。孙虎山<sup>[35,36]</sup>等报道复合免疫药物对扇贝血淋巴抗菌溶菌活力的影响。王宜艳等<sup>[37]</sup>发现了海湾扇贝和栉孔扇贝血清中的溶菌酶，并进行了酶活力测定。可见，溶菌酶对于贝类的

免疫防御具有重要的作用。

许多学者认为无脊椎动物中普遍存在酚氧化酶原激活系统,该系统在对异物的识别过程中起着关键作用。酚氧化酶激活系统是由丝氨酸蛋白酶和其它因子组成的一个复杂的酶级联系统,当有异物入侵时,异物表面的结构成分如真菌中的葡聚糖和革兰氏阴性菌中的脂多糖作为非己信号可激活丝氨酸蛋白酶,激活后的丝氨酸蛋白酶又激活酚氧化酶原,产生有活性的酚氧化酶,可氧化酚生成醌,醌自发生成黑色素。黑色素及其形成过程中的中间产物均为高活性物质,可抑制病原体蛋白酶和几丁质酶的活性,从而在伤口愈合、抑制和杀死病原体方面发挥重要作用。孙虎山等<sup>[35]</sup>检测了栉孔扇贝血淋巴中酚氧化酶和髓过氧化物酶活性,并对海湾扇贝、虾夷扇贝(*Patinopecten(Mizuhopecten)yessoensis*)和栉孔扇贝的酚氧化酶进行了免疫细胞化学研究,并对血细胞酶反应的阳性率作了统计,发现3种扇贝血细胞酚氧化酶阳性率相差不大,都比较低。

在贝类的免疫因子研究中,还有一些重要的指标,如超氧化物歧化酶、碱性磷酸酶、酸性磷酸酶、抗菌肽、蛋白酶抑制剂、凝集素等在机体免疫中有一定的作用,如王宜艳等<sup>[37]</sup>对海湾扇贝的非特异性酯酶(NSE)、过氧化氢酶(CAT)、髓性过氧化物酶(MPO)、一氧化氮(NO)、一氧化氮合酶(NOS)分别进行了分析测定,并进行了组织化学和免疫组化定位方面的研究。

## 2 环境因子对贝类免疫力的影响

1997年以来由于扇贝疾病的爆发造成了重大的经济损失,因此关于扇贝病害的预防、病害发生的原因、疾病的治理等方面的研究深入而广泛地开展起来。迄今有关贝类病害发生的原因的探讨主要涉及到养殖生态环境、遗传种质、病原微生物感染及免疫防御机制等。在宿主-环境-病原疾病三要素的相互作用中,贝类本身的免疫力强弱是至关重要的内在因素,但也不能忽视环境因素的影响。关于病害发生的机理,许多研究表明是由于当外界的环境因子发生改变后,生物因应激反应,引起自身的免疫力下降,从而对病原的易感性提高,导致疾病的暴发。

贝类养殖的方式主要有筏式养殖和底播养殖两种,养殖区域主要集中在近海,尤其是滩涂地带,正处于海洋污染的集中区域。据不完全统计,1998年

近海企业排放的工业废水约40亿t,占全国工业废水排放总量的20%。通过不同途径进入中国近海的各种陆源污染物质每年约1500万t。另外,海上油气田、传播的废弃物排入海和废弃物海洋倾倒等海上作业也是重要的污染源。污染物成分主要是化学需氧物质、氨氮、油类物质和磷酸盐四类物质,此外还有硫化物、锌、砷、铅、镉、挥发酚、汞等。贝类养殖的自身污染包括生物沉积和贝类排泄物,增加了水体中营养盐的浓度。这些污染的急剧增加,导致了海洋自身净化能力的下降,已有研究证实生物受到逆境胁迫时,能促使机体细胞内线粒体、微粒体和胞浆的酶系统和非酶系统反应,通过还原产生活性氧和氧自由基,打破了生物体内活性氧代谢的平衡。所以,开展贝类环境免疫学等基础方面的研究成为了近年来研究的热点。

### 2.1 盐度

有关环境中的盐度突变与水生生物免疫力的关系方面报道很多,盐度突变能够导致甲壳动物、鱼类机体的免疫力下降。据潘鲁青等<sup>[38]</sup>报道盐度突变(30→15)短时间内(10h),两种养殖对虾的抗菌和溶菌活力逐渐降低;李才文<sup>[39]</sup>等研究指出盐度日变化为2(25→9或33),在4-8d内日本对虾(*Marsupenaeus japonicus*)血细胞数量显著降低;张鹭等<sup>[40]</sup>发现在低盐度下,缢蛏(*Sinonovacula comstricata* Lamarck)的死亡率显著增加;降低盐度,发现缢蛏血淋巴内有多种蛋白质包括磷脂酶A<sub>2</sub>、锌指蛋白等6种蛋白或多肽发生相应的变化,并发现在高温、低盐下,缢蛏血淋巴内40ku以下小分子质量碱性蛋白质的差异表达发生变化。

### 2.2 氨氮

氨氮是贝类养殖环境中重要的胁迫因子,是导致贝类疾病发生的重要原因之一。氨氮主要由生物排泄物、贝类分泌物以及动植物尸体等含氮有机物分解产生。在水体中以离子氨(NH<sub>4</sub><sup>+</sup>)和非离子氨(NH<sub>3</sub>)两种形态存在,它们之间可以相互转换。据报道当pH小于7时,氨氮几乎都为离子氨,当pH大于11时几乎都为非离子氨,其中非离子氨因为不带电荷,具有较强的脂溶性,能够穿透细胞膜,而表现出毒性效应,破坏水生动物的鳃组织并渗入血液,降低其呼吸机能和血液载氧能力,导致水生动物缺氧或中毒死亡。

养殖水体中氨氮含量增加会导致水生生物生存

环境的恶化,孙舰军等<sup>[41]</sup>报道处于高氨氮浓度水环境中 20 d(0.4 mg/L→2.5 mg/L),中国明对虾 (*Fenneropenaeus chinensis*) 血细胞数量减少,溶菌、抗菌及超氧化物歧化酶活力明显下降,对病原菌的易感性提高。Moullac 等<sup>[42]</sup>研究发现氨氮浓度升高(0→3.0mg/L),对虾血细胞数量降低约 50%。据韩家波<sup>[43]</sup>报道,辽宁某贝类养殖场滩涂底质中氨氮含量在 5.77~19.63 mg/kg 范围内,随着氨氮浓度的增加,文蛤的死亡情况越严重,氨氮是造成 1993 年辽宁沿海滩涂贝类死亡的主要原因。樊甄娇<sup>[44]</sup>发现不同浓度氨氮胁迫下栉孔扇贝血淋巴中胞内胞外活性氧自由基含量、超氧化物歧化酶和过氧化氢酶活性有显著变化,适当的氨氮刺激可增加胞内外活性氧的含量,增强扇贝的两种抗氧化酶活性,但较高浓度氨氮则使胞内外活性氧的含量显著下降并明显抑制抗氧化酶的活性。

目前普遍认为,水中氨氮浓度的变化影响贝类的免疫力,进而影响其存活与生长。贝类免疫力的下降,会造成贝类对病原菌易感的提高,从而易引发贝类的死亡,而养殖环境中死亡的贝类并不会被马上清理出来,死亡的贝体腐败分解,释放有害物质(氨氮、硫化氢等)造成整个滩涂污染,加快了贝类疾病的传播。

### 2.3 重金属等污染物

近几年的水产品出口情况相对于水产业整体发展来看,水产品对外贸易发展滞后严重。以贝类为例,中国每年都有上千万吨的贝类产量,而每年的出口量只有几十万吨。出现这种情况的主要原因是中国的贝类质量难以达到欧、美、日、韩等国家和地区的要求,而其中重金属超标是主要的原因之一,如欧盟在委员会条例 466/2001/EC 和委员会指令 2001/22/EC 中对铅、镉、汞的允许含量做出了具体要求,美国 FDA 把砷、镍、铬等也作为有害重金属做出相关规定。这说明目前中国贝类的养殖环境中重金属污染已成为一个普遍需要引起高度重视的因素。

由于贝类生长环境的特殊性以及贝类的富集作用,使得贝类更容易在体内聚集有毒有害物质,但除非发生很大的污染,通常重金属并不被认为严重危害贝类生长。刘桂荣<sup>[45]</sup>对山东沿海主要养殖区设定的 9 个站位的栉孔扇贝重金属进行了分析检测,结果表明扇贝体内铬、铜、铅、汞、砷含量均未超过国家卫生标准和农业部行业卫生标准。重金属离子作为水生生物环境中的重要污染物,能够影响水螅、锯缘青蟹

(*Scylla serrata*)、鲫鱼和泥鳅等水生生物的生长、发育等方面的报道较多<sup>[46-48]</sup>。有关重金属与贝类的生长及免疫功能影响方面是近年来国内外研究的热点。Sami<sup>[12]</sup>通过环境污染中残留的多芳香烃类物质对贞洁巨牡蛎 (*Crassostrea virginica*) 血细胞影响的研究,发现牡蛎小颗粒血细胞数量增加,大颗粒细胞的数量明显减少的现象。Smith 等<sup>[21]</sup>报道处于淤泥污染(主要包括重金属离子、多氯化联苯)和多核芳香烃等有机污染物)中的贻贝血细胞数量减少。隋国斌等<sup>[49]</sup>进行了铅、镉、汞对皱纹盘鲍 (*Haliotis discus hannai* Ino) 幼鲍的急性毒性实验,刘琼玉等<sup>[50]</sup>进行了重金属锌、铅的菲律宾蛤仔的急性毒性试验;吕景才等<sup>[51]</sup>研究了不同浓度的铜对栉孔扇贝鳃、肌肉、内脏团组织铜蓄积量及超氧化物歧化酶活性的影响,发现随水体中铜浓度升高,扇贝各组织的铜蓄积量明显上升,其超氧化物歧化酶活性均有明显影响,酶活性随  $\text{Cu}^{2+}$  浓度升高表现为抑制-诱导-抑制的规律。栉孔扇贝各组织 SOD 对水体中 Cu 污染反应敏感,存在剂量-效应关系。

### 2.4 其它

温度对贝类的免疫力有一定影响。Cornick<sup>[6]</sup>发现贝类血细胞的运动速度以及颗粒血细胞所占的百分数受季节影响,认为当温度、pH 超出贝类的适应范围时,其免疫力就会降低。张鹭等<sup>[52]</sup>发现在高温应激下,缢蛏血淋巴内有锌指蛋白及 IBP-CARCR chelonianin 两种蛋白发生变化。最近,多个机构的科学家经过联合研究发现气温变化是导致从 1995 年开始的法国牡蛎大量死亡的主要原因。樊甄娇<sup>[53]</sup>发现 pH 胁迫栉孔扇贝体内 ACP、ALP、SOD 和 CAT 及胞内活性氧含量等 5 种免疫指标有明显变化。

水环境中的因子彼此之间存在协同作用,一种因子的改变往往会引起一系列因子的变化。因此合理的调控水环境,才能针对性地增强贝类机体的免疫力,防治疾病的暴发。

贝类疾病的暴发是病原、环境因子和机体免疫力共同作用的结果。作者认为在贝类的免疫学方面应该加强以下几方面的研究:(1) 环境因子变化对贝类免疫力影响的研究;(2) 有关血细胞生成机制的研究;

(3) 不同类型的血细胞之间以及血细胞与体液免疫因子之间通讯信号的研究。对于上述问题的研究可以深入了解贝类的免疫防御机制,丰富贝类免疫学理

论, 尤其通过环境因子变化对贝类免疫力影响的研究结果既拥有重要的环境免疫学方面的理论意义, 又能为养殖水质调控和疾病防治提供科学的数据, 具有较大的实践指导价值。

参考文献:

- [1] Feng S Y. Pinocytosis of proteins by oyster leucocytes[J]. **Biol Bull**, 1965, 129: 95-105.
- [2] Cheney D P A. Summary of invertebrate leucocyte morphology with emphasis on blood elements of the manila clam, *Tapes semidecussata*[J]. **Biol Bull**, 1971, 140 (3): 353-368.
- [3] Ruddell C L. Elucidation of the nature and function of the granular oyster amoebocytes through histochemical studies of normal and traumatized oyster tissues[J]. **Histochemie**, 1971, 26: 98-112.
- [4] Moore M N, Lowe D M. The cytology and cytochemistry of the hemocytes of *Mytilus edulis* and their response to experimentally injected carbon particles[J]. **Journal of Invertebrate Pathology**, 1977, 29: 18-30.
- [5] Moore C A. Cytochemical aspects of *Mercenaria mercenaria* hemocytes[J]. **Biol Bull**, 1972, 152: 105-119.
- [6] Cornick J W, Stewart E J E. Lobster (*Homarus americanus*) hemocytes: classification, differential counts and associated activity[J]. **Invertebr Pathol**, 1978, 31:194-203.
- [7] McKay D, Jenkin C R. The role of serum factors in phagocytosis of erythrocytes by haemocytes of the freshwater crayfish (*Parachanna bicarinatus*)[J]. **Aust J Eep Biol Med Sci**, 1970, 48(2):139-150.
- [8] Söderhall K, Unestam T. Activation of crayfish serum prophenoloxidase: The specificity of cell wall glucan activation and activation by purified fungal glycoproteins[J]. **Can J Microbiol**, 1979, 25,406-414.
- [9] Mix M C A. General model for leucocyte cell renewal in bivalve mollusks[J]. **Mar Fish Rew**, 1976, 38: 37-41.
- [10] Cheng T C, Rodick G E, Foley D A. Release of lysozyme from hemolymph cells of *Mercenaria* during phagocytosis[J]. **J Invertebrate Pathology**, 1975, 25: 261-265.
- [11] Bayne C J. The mollusca. Academic Press, 1983. 5:407-500.
- [12] Cheng T C. Bivalves Invertebrate Blood Cells[M]. Academic Press: New York, 1981.1:233-330.
- [13] Coombs, Hall D O, Long S P, *et al.* Techniques in bioproductivity and photosynthesis[M]. Pergamon Press, 1985.87-101.
- [14] Ikeda T, Skjoldal H R. Metabolism and elemental composition of zooplankton from the Barents Sea during early Arctic summer[J]. **Mar Biol**, 1989, 100:173-183.
- [15] Gandy R, Boucher J. Relation between respiration, excretion (ammonia and inorganic phosphorus) and activity of amylase and trypsin in different species of pelagic copepods from an Indian Ocean equatorial area[J]. **Mar Biol**, 1983, 75:447-460.
- [16] Kiorboe K J, Hamiton S J, Schmulbach J C. Acute toxicity of the herbicide bromoxynil to *Daphnia magna*[J]. **Environ Toxicol Chem**, 1985, 12: 1455-1468.
- [17] Cheng, T C. The role of lysosomes in molluscan inflammation[J]. **Smer Zool**, 1983, 6(6): 403-412.
- [18] Hultmark D, Steiner H, Rasmussen T, *et al.* Insect immunity: purification and properties of three inducible bactericidal proteins from hemolymph of immunized pupae of *Hyalophora cecropia*, Eur[J]. **J Biochem**, 1980, 106:7-16.
- [19] Hall L, Soderhall K. Purification and properties of a protease inhibitor from crayfish hemolymph[J]. **Invertebr Pathol**, 1982, 39:29-37.
- [20] Quigley J P, Armstrong P B. An endopeptidase inhibitor, similar to mammalian  $\alpha_2$ -macroglobulin, detected in the hemolymph of an invertebrate, *limulus polyphemus*[J]. **J Bio Chem**, 1983, 258(13):7903-7906.
- [21] Smith V J, Soderhall K.  $\beta$ -1,3-glucan activation of crustacean hemocytes in vitro and in vivo[J]. **Biol Bull**, 1983, 164:299-311.
- [22] 李太武, 等. 皱纹盘鲍对河流弧菌 II 疫苗免疫的研究[J]. 海洋与湖沼, 1997, 28: 27-31.
- [23] 张维翥, 吴信忠, 李登峰, 等. 栉孔扇贝血液细胞的免疫功能[J]. 动物学报, 2005, 51(4):669-677.
- [24] Maria J C. Haemolymph cell types of the mussel *Mytilus galloprovincialis*[J]. **Disease of aquatic organisms**, 1997, 29: 127-135.
- [25] Smith V J, Soderhall K.  $\beta$ -1,3-glucan activation of crustacean hemocytes in vitro and in vivo[J]. **Biol Bull**, 1983, 164:299-314.
- [26] Smith V J, Swindlehurst R J, Johnston P A, *et al.* Disturbance of host defense capacity in crayfish hemocyte

- lysate[J]. **Biochim Biophys Acta**, 1995, 79(7):99-104.
- [27] 孙虎山. 栉孔扇贝血细胞的吞噬作用及其扫描电镜研究[J]. 高技术通讯, 2001, 31 (2): 22-27.
- [28] Hauton C H, Awkins L E H, Utchinson S H. Response of haemocyte lysosomes to bacterial inoculation in the oysters *Ostrea edulis* L. and *Crassostrea gigas* and the scallop *Pecten maximus*[J]. **Fish & Shellfish Immunology**, 2001,11:143-153.
- [29] Kiorboe K J, Hamiton S J and Schmulbach J C. Acute toxicity of the herbicide bromoxynil to *Daphnia magna*[J]. **Environ Toxicol Chem**, 1985,12: 1455-1468.
- [30] Pipe R K. Differential binding of lectins to haemocytes of the mussel *mytilus edulis*[J]. **Cell and Tissue Research**, 1990, 261: 261-268.
- [31] 石安静, 等. 三角帆蚌珍珠囊形成的研究[J]. 水产学报, 1985, 9 (3): 247-252.
- [32] Amadeu M V M, Onald S D, Aird J B, et al. Inferclonal variation in the magna Straus in chronic bioassays. **Environ Toxicol Chem**, 1992, 11:1 477-1 483.
- [33] 刘世良,等. 双壳类生物免疫系统和机理的研究进展[J]. 海洋科学, 2003,2:95-103.
- [34] Victor B, Narayanan M, JonesNelson D, et al. Gill pathology and hemocyte response in mercury exposed *Macrobrachium idea* Heller[J]. **Environmental Biology**, 1990, 11:61-65.
- [35] 孙虎山. 栉孔扇贝血淋巴中酚氧化酶和髓过氧化物酶活性[J]. 中国水产科学, 1999, 2: 42-45.
- [36] 孙虎山. 栉孔扇贝血淋巴中超氧化物歧化酶和过氧化氢酶活性及其性质研究[J]. 海洋与湖沼, 2000, 5: 35-39.
- [37] 王宜艳, 等. 海湾扇贝消化系统粘液细胞的类型和分布[J], 中国水产科学, 2003, 3:17-21.
- [38] 潘鲁青, 姜令绪. 盐度、pH 突变对 2 种养殖对虾免疫力的影响[J]. 青岛海洋大学学报, 2002, 32 (6): 903-910.
- [39] 李才文, 管越强, 俞志明. 盐度变化对日本对虾爆发白斑综合症病毒病的影响[J]. 海洋环境科学, 2002, 21 (4): 6-9.
- [40] 张鹭, 陈演山, 彭宣宪. 低盐压力下缢蛭血淋巴蛋白的比较蛋白质组学研究[J]. 吉林农业大学学报, 2006, 4:272-279.
- [41] 孙舰军,丁美丽. 氨氮对中国对虾抗病力的影响[J]. 海洋与湖沼, 1999, 30 (3): 267-272.
- [42] Le M G, Haffner P. Environmental factors affecting immune responses in crustacea[J]. **Aquaculture**, 2000, 191:121-131.
- [43] 韩家波,薛克,吕建发,等. 辽宁沿海滩涂双壳类生物死亡调查[J]. 水产科学, 1994,13: 12-13.
- [44] 樊甄娇, 刘志鸿, 杨爱国. 氨氮对栉孔扇贝血淋巴活性氧含量和抗氧化酶活性的影响[J]. 中国海洋大学学报, 2005, 3:41-45.
- [45] 刘桂荣. 扇贝中重金属残留及食用风险分析[D]. 中国海洋大学博士论文, 2005.
- [46] 汤鸿等,李少菁,王桂忠,翁卫华. 铜、锌、镉对锯缘青蟹仔蟹代谢酶活力影响的实验研究[J]. 安徽师范大学, 2005, 28: 440-444.
- [47] 赵华斌, 胡好远, 王莹, 等. Pb<sup>2+</sup>和 Cd<sup>2+</sup>对水螅毒性作用的初步研究[J]. 安徽师范大学学报, 2005,28: 447-450.
- [48] 王银秋,张迎梅,赵东芹.刊重金属镉、铅、锌对鲫鱼和泥鳅的毒性[J].甘肃科学学报,2003,5(1):35-38.
- [49] 隋国斌,扬风,孙丕海,等. 铅、镉、汞对皱纹盘鲍幼鲍的急性毒性实验[J].大连水产学院学报,1999,14(1):22-26.
- [50] 刘琼玉,洪华生,蔡立哲.重金属锌、铅对菲律宾蛤仔的急性毒性试验[J].台湾海峡,1997,16(1):50-54.
- [51] 吕景才, 赵元风, 吴宜春等, 海水中铜在扇贝组织的蓄积及其对酶活性的影响, 农业工程学报, 2005,21 (5): 131-135.
- [52] 张鹭, 陈演山, 彭宣宪, 温度应激下缢蛭血淋巴蛋白质组的比较研究[J].畜牧与兽医, 2006, 1: 1-3.
- [53] 樊甄娇, 环境因子和外源刺激对栉孔扇贝免疫活性的影响[J].中国海洋大学博士论文, 2005.

(本文编辑: 梁德海)