

天蚕素和溶菌酶对中华鳖腐皮病预防效果的研究

陈春山, 郭明磊, 魏凯, 马龙, 耿琰

(北京市水生野生动植物救护中心, 北京 102100)

摘要: 为探讨天蚕素和溶菌酶对中华鳖 *Trionyx sinensis* 腐皮病的防治效果。本实验采用肌肉注射天蚕素 ($10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)、溶菌酶 ($10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 及天蚕素 ($6 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 和溶菌酶 ($5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 混合物, 观察其对鳃气单胞菌 *Aeromonas encheleia* 引起的中华鳖腐皮病的预防效果。以死亡率和相对保护率评价不同药物的保护效果; 通过检测血清凝集效价、细胞吞噬功能和血清杀菌活力, 比较不同药物对中华鳖免疫力和抗病能力的影响; 比较庆大霉素和溶菌酶血药残留浓度, 评估药物毒副作用。结果表明: 天蚕素和溶菌酶二联法对中华鳖保护效果最好、免疫效果最佳, 与其他组相比差异均有高度统计学意义 ($P < 0.01$); 血药残留分析表明, 溶菌酶在用药后第 6 天全部代谢完毕, 庆大霉素停药第 12 天仍有残留。天蚕素和溶菌酶二联法预防中华鳖腐皮病效果显著优于抗生素, 无药物残留和耐药副作用, 并提高免疫力, 避免了应用抗生素所带来的危害, 值得推广应用。

关键词: 中华鳖; 天蚕素; 溶菌酶; 腐皮病; 预防

中图分类号: Q959.6; S858.9 文献标志码: A 文章编号: 1000-7083(2017)03-0311-06

Study on Preventive Effect of Cecropin and Lysozyme on Skin Fester Disease of *Trionyx sinensis*

CHEN Chunshan, GUO Minglei, WEI Kai, MA Long, GENG Yan

(Beijing Aquatic Wildlife Rescue and Conservation Center, Beijing 102100, China)

Abstract: In order to study the preventive effect of peptides and biological antibiotics on the skin fester disease of *Trionyx sinensis* caused by *Aeromonas encheleia*, 3 different groups of cecropin ($10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), lysozyme ($10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) and mixed drugs ($6 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ cecropin and $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ lysozyme, respectively) were used for intramuscular injection. The mortality rate and relative percent survival were then calculated to evaluate the protective effects of different drugs. Agglutination titer of serum, phagocytosis and bactericidal activity of serum were measured to compare the effects of different drugs on immunity and disease resistance of *T. sinensis*. The residual concentrations of gentamicin and lysozyme were compared to evaluate drug toxic and side effects. The results showed that mixed drugs could extremely significant ($P < 0.01$) protect *T. sinensis* and increase their immunity. Analysis of drug residue showed that lysozyme was completely metabolized after 6 days, and in contrast, gentamicin still had residue until day 12 after withdrawal. Therefore, the preventive effect of mixed drugs is significantly better than antibiotics in skin fester disease of *T. sinensis*. In addition, mixed drugs of lysozyme and cecropin are worthy of spreading to application in virtue of no drug residue and other side effects, especially avoiding the damage caused by abuse of antibiotics.

Keywords: *Trionyx sinensis*; cecropin; lysozyme; skin fester disease; prevention

腐皮病是中华鳖 *Trionyx sinensis* 养殖过程中最为常见和难以治疗的多发病, 主要症状为全身体表皮肤糜烂坏死, 以脖颈与四肢最为典型, 随着病情恶化, 溃烂面积不断扩大, 直至颈部皮肤及脚爪脱落, 四肢骨骼外露, 最后死亡 (薛红玲, 2000; 吴惠仙, 2004)。此病由多种细菌侵染引起 (张德群, 2000)。本实验从患病中华鳖体内检测出的鳃气单胞菌 *Aer-*

omonas encheleia 尚未见报道。目前常用抗生素药物治疗中华鳖腐皮病。随着抗生素药物的泛用和滥用, 产生了一系列严重后果 (汪以真等, 2004), 如病原菌耐药、养殖水质恶化和药物残留, 尤其是甲鱼肌肉抗生素残留对人体的损害尤为突出, 已经引起人们广泛关注 (丁明德, 2015)。因此, 寻找合适并有效的药物或方法替代抗生素, 是中华鳖健康养殖的

收稿日期: 2016-12-24 接受日期: 2017-02-22

基金项目: 北京市农业科技试验示范项目 (20110821)

作者简介: 陈春山 (1962—), 男, 高级工程师, 研究方向: 水生野生动物保护技术, E-mail: chenchunshan8888@126.com

迫切需要。

抗菌肽(antimicrobial peptide)是从生物体内诱导的一类具有抗菌活性的碱性多肽物质。目前世界上已知的抗菌肽共 2 000 多种(陈琛等,2014;尹昆仑等,2015)。抗菌肽对部分真菌、原虫、病毒及癌细胞等均具有很强的杀伤作用,但对正常的真核细胞无毒性(David & Ayyalusamy,2008),可应用在医学、农牧业、水产养殖等领域(单红等,2012;李冠楠等,2014;梁英,2014;严沁等,2015)。天蚕素(cecropin)是第一个被发现的动物抗菌肽,是生物体抵御外源性微生物入侵而产生的一类具有抗菌活性的碱性多肽物质,具有强碱性、热稳定性以及广谱抗菌等特点(Zasloff,2002)。大量研究表明,天蚕素能抑制多种畜禽病原菌(侯振平等,2011;吕尊周等,2011)。用抗菌肽作为饲料添加剂,能很好地解决饲用抗生素的问题,这也是抗菌肽在畜牧业上最直接的应用。姜兰等(2002)将基因重组抗菌肽的发酵产物浓缩干燥,添加到饲料中,对中华鳖红脖子病、赤斑病、穿孔病等具有一定的防治效果。

溶菌酶(lysozyme)又称胞壁质酶或 N-乙酰胞壁质聚糖水解酶,是一种能水解致病菌中黏多糖的碱性酶(徐永平等,2011)。溶菌酶作为一种天然杀菌蛋白,能够灭杀多种有害病菌(杨向科等,2005;刘莹等,2006;张琇等,2007;Guzzo *et al.*,2011;Dias *et al.*,2015)。王坛等(2016)在吉富罗非鱼 *Oreochromis niloticus* 的饲料中添加溶菌酶,可以显著提高罗非鱼血清抗菌性能。

本实验研究了天蚕素、溶菌酶对中华鳖腐皮病的预防效果,以期能够找到一种抗生素替代物。实验先通过 1 周的预防性用药,再人工感染病原菌,通过检测致病菌感染后中华鳖的死亡率和相对保护率、细胞吞噬活性、血清凝集效价、庆大霉素和溶菌酶的血药残留浓度等指标,论证天蚕素和溶菌酶替代抗生素的可行性。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验动物 实验材料为北京市水生野生动植物救护中心饲养的健康中华鳖,体质量 $200\text{ g} \pm 10\text{ g}$,分别饲养在 6 个室内水池($200\text{ cm} \times 500\text{ cm} \times 80\text{ cm}$)中。控温装置控制水温,驯养时间为 1 周,完全适应实验环境后开始正式实验。

1.1.2 细菌制备 鳗气单胞菌为本中心从患腐皮

病的中华鳖分离获得。将活化的鳗气单胞菌接种于 LB 培养液, $37\text{ }^\circ\text{C}$ 摇床 $180\text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 培养过夜,现用现制备,保持细菌活力。

1.1.3 实验试剂 庆大霉素购自兽药市场,天蚕素购于美力盾公司,溶菌酶购于北京鼎国昌盛生物技术有限公司,庆大霉素酶联免疫试剂盒购自研域(上海)化学试剂有限公司,溶菌酶单克隆抗体购于 SIGMA 公司,其他试剂均购自北京鼎国昌盛生物技术有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 实验设计 全部实验时间为 20 d。前 7 d 为预防性用药,第 8 天人工感染病原菌(一次性注射),第 9~20 天观察并采样。

选取 300 只体质量为 $200\text{ g} \pm 10\text{ g}$ 的健康中华鳖,随机分为 6 组,每组 50 只。第 1 组为空白的阴性对照组,主要用于全部实验过程的质量控制,证实实验无外源因素干扰;第 2 组为病原菌感染的阳性对照组,用于与各个治疗组做对照;第 3 组为庆大霉素组;第 4 组为天蚕素组;第 5 组为溶菌酶组;第 6 组为天蚕素和溶菌酶联合组。实验环境光照、通风良好,水温 $31\text{ }^\circ\text{C} \sim 33\text{ }^\circ\text{C}$,饲料为甲鱼专用饵料,每天 15:00 投喂 1 次。养殖 1 周后进行鳗气单胞菌感染实验。

给药剂量:生理盐水 $100\text{ }\mu\text{L}$,庆大霉素 $4.0 \times 10^4\text{ U} \cdot \text{kg}^{-1}$,天蚕素 $10\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,溶菌酶 $10\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,天蚕素 $6\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和溶菌酶 $5\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 混合物。

给药方法:各种药物均采用后腿肌肉注射,09:00 和 17:00 各注射 1 次,连续注射 7 d 停药。

鳗气单胞菌感染方法:将鳗气单胞菌制成浓度 $10^8\text{ cfu} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的菌悬液备用。实验第 8 天,第 2~6 组实验中华鳖腹腔注射 $200\text{ }\mu\text{L}$ 的活菌悬液,第 1 组注射等剂量的生理盐水,放回实验室水箱中饲养,直到第 20 天实验结束。

具体给药和感染方法见表 1。

表 1 中华鳖给药、感染方法
Table 1 The method of drug delivery and infection

组别	第 1~7 天(连续注射)	第 8 天(一次性注射)
1	生理盐水	生理盐水
2	生理盐水	鳗气单胞菌
3	庆大霉素	鳗气单胞菌
4	天蚕素	鳗气单胞菌
5	溶菌酶	鳗气单胞菌
6	天蚕素 + 溶菌酶	鳗气单胞菌

1.2.2 标本采集和数据统计 在鳗气单胞菌感染后第2、4、6、8、10、12天,每天从各组中随机取5只活鳖,断头取血,处理后保存备用。实验第20天,将各组剩余鳖全部断头法采血。将每只鳖的血液分为2份,其中1份用EDTA抗凝剂制备抗凝血;另1份于4℃、4000 r·min⁻¹离心10 min,制备血清,-20℃保存备用。实验中途鳖死亡立即断头采血,血样处理后备用。

根据各实验特点,在SPSS 17.0中采用 χ^2 检验和单因素方差分析,统计结果用平均值±标准差(Mean±SD)表示。显著性水平设为 $P < 0.05$ 。

1.2.3 相对保护率统计 每天统计每组实验中华鳖的死亡数,去除从各组中随机宰杀的30只,统计死亡率的实验中华鳖基数为20只。于实验第20天统计死亡个数,计算死亡率和相对保护率。

相对保护率 = [1 - 给药组死亡率/阳性对照组死亡率] × 100%。

1.2.4 TTC还原法血细胞吞噬功能的测定 第6、8、10、12天收获的实验中华鳖,每组共20只。

将氯化三苯四氮唑蓝(TTC)用Hank's液配成0.01%的溶液,取TTC 0.5 mL与抗凝血0.5 mL混匀后28℃孵育1 h,常规涂片,甲醇固定,用Wright's液染色5 min,油镜下观察吞噬细胞结果。

吞噬率 = (200个中性粒细胞中吞噬细菌的细胞数/200) × 100%。

吞噬指数 = 200个中性粒细胞中吞噬细菌的细胞总数/200。

1.2.5 血清凝集效价的测定 第6、8、10、12天收获的实验中华鳖,每组共20只。采用玻片凝集法将待测血清按倍比稀释法进行稀释,取不同稀释度的血清30 μL置于96孔板中,分别加入30 μL的2%鸡血细胞悬液,混均后室温下放置30 min,观察有无发生凝集反应。对照组以磷酸盐缓冲液(PBS)代替血清,以发生凝集的血清最高稀释度作为血清的凝集效价。

1.2.6 血清杀菌活性测定 第6、8、10、12天收获的实验中华鳖,每组共20只。采用Hultmark和Steiner(1980)的方法,取对数生长期鳗气单胞菌离心沉淀菌体,以0.1 mol·L⁻¹,pH6.4 PBS悬浮细菌,调整菌液浓度,使570 nm的光吸收值为0.3~0.5;每1 mL菌液加10 μL待测样品,以PBS作空白对照;37℃水浴30 min,迅速冰浴,测570 nm的光吸收值。按公式: $U = \sqrt{(A_0 - A)/A}$,计算抗菌肽的杀菌活力

单位U,其中A₀为空白对照在570 nm的光吸收值,A为处理样品在570 nm的光吸收值。

1.2.7 药物残留测定 在感染结束后的第2、4、6、8、10、12天,选取阳性对照组、庆大霉素组和溶菌酶组中的中华鳖各5只,断头法采血,血液于4℃,4000 r·min⁻¹离心10 min,制备血清备用。

用庆大霉素酶联免疫分析(ELISA)试剂盒测定庆大霉素的残留量,按试剂盒说明书操作。

双抗体夹心法检测溶菌酶残留,在酶标板中加入血清100 μL/孔,37℃孵育30 min,弃上清,洗涤液洗涤3次,拍干,再加入不同浓度的酶标抗体100 μL/孔,37℃孵育30 min,弃上清,洗涤液洗涤3次,拍干,加底物A、B液总量达100 μL/孔,37℃孵育15 min,显色后加终止液50 μL/孔,酶标比色仪450 nm测光密度值。

2 结果与分析

2.1 相对保护率

阴性对照组死亡率0%,而阳性对照组高达95%;与阳性对照组相比,3、4、5组的死亡率显著降低(χ^2 检验, $P < 0.01$),其中尤以第6组的天蚕素和溶菌酶联合组效果显著(χ^2 检验, $P < 0.01$)。天蚕素和溶菌酶单用的4、5组之间相对保护率的差异无统计学意义(χ^2 检验, $P > 0.05$);分别与第3组相比,差异有统计学意义(χ^2 检验, $P < 0.05$);而二者联用,相对保护率明显上升,第6组分别与第3、4、5组相比,差异有统计学意义(χ^2 检验, $P < 0.05$)(表2)。

表2 不同药物对中华鳖腐皮病死亡率和相对保护率的影响($n=20$, χ^2 检验)

Table 2 The mortality rate and relative percent survival of the skin fester disease using different drugs ($n=20$, χ^2 test)

组别	实验鳖数量/只	死亡鳖数量/只	死亡率/%	相对保护率/%
1	20	0	0	—
2	20	19	95	0 ^a
3	20	12	60	36.84 ^b
4	20	5	25	73.68 ^c
5	20	5	25	73.68 ^c
6	20	1	5	94.74 ^d

注:表中上标字母表示差异显著性水平,相同字母表示差异无统计学意义($P > 0.05$);相邻字母表示差异有统计学意义($P < 0.05$);相间字母表示差异有高度统计学意义($P < 0.01$);下同。

Notes: The superscript letters in the table indicates the significant difference levels; same letter indicates there is no significant difference ($P > 0.05$); adjacent letters indicate there is a significant difference ($P < 0.05$); alternate letters indicate there is an extremely significant difference ($P < 0.01$); the same below.

2.2 白细胞吞噬功能检测

白细胞吞噬指数和吞噬率检测结果见表 3。阴性对照组无菌感染。阳性对照组和给药组检测数据统计结果表明, 给药组(3、4、5、6 组)的吞噬指数和吞噬率均显著高于阳性对照组($P < 0.01$)。其中, 4、5、6 组的白细胞吞噬能力又优于第 3 组($P < 0.01$)。天蚕素和溶菌酶单用的差异无统计学意义($P > 0.05$)。而天蚕素和溶菌酶联用与单用的 4、5 组相比, 效果显著提升($P < 0.01$)。

表 3 不同药物对白细胞吞噬活性的影响 ($n = 20$)
Table 3 The effects of different drugs on leukocyte phagocytosis activity ($n = 20$)

组别	吞噬率/%	吞噬指数
2	3.95 ± 0.497 ^a	1.752 ± 0.913 ^a
3	16.75 ± 1.495 ^b	3.688 ± 0.381 ^b
4	24.95 ± 2.351 ^c	5.945 ± 0.601 ^c
5	27.08 ± 2.371 ^c	6.538 ± 0.709 ^c
6	37.35 ± 3.859 ^d	7.858 ± 0.804 ^d

2.3 血清凝集效价检测

阳性对照组、庆大霉素组、天蚕素组、溶菌酶组、天蚕素与溶菌酶联合组的血清凝集效价分别为 1:2、1:4、1:6、1:6、1:8。结果表明, 给药组的效价均高于阳性对照组, 其中尤以天蚕素与溶菌酶联用的效价最高, 明显高于庆大霉素组, 也高于天蚕素和溶菌酶单用组。

2.4 血清杀菌活力检测

不同药物作用下, 血清杀菌活力结果见表 4。阴性对照组无菌感染。给药各组与阳性对照组相比, 血清杀菌活力均显著提高。第 4、5、6 组与第 3 组相比, 杀菌活力明显较高, 其中尤以联用组活力最高(第 6 组与第 3 组相比, $P < 0.01$)。而第 4 组与第 5 组相比差异无统计学意义($P > 0.05$) (表 4)。

表 4 不同药物对血清杀菌活力的影响 ($n = 20$)
Table 4 The effects of different drugs on serum bactericidal activity ($n = 20$)

组别	血清杀菌活力
2	0.245 ± 0.032 ^a
3	0.374 ± 0.038 ^b
4	0.448 ± 0.048 ^c
5	0.478 ± 0.050 ^c
6	0.603 ± 0.062 ^d

2.5 药物残留检测

庆大霉素和溶菌酶药物残留测定结果见表 5。

结果表明, 庆大霉素自停药第 8 天开始, 药物代谢速度明显下降, 至第 12 天, 仍有明显残留。而溶菌酶在第 6 天被全部吸收代谢, 无任何残留。

表 5 庆大霉素和溶菌酶药物残留
Table 5 The residue concentration of gentamicin and lysozyme in blood

天数	庆大霉素血药浓度/ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	溶菌酶血药浓度/ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)
2	0.340 ± 0.030	0.310 ± 0.032
4	0.266 ± 0.017	0.105 ± 0.010
6	0.197 ± 0.019	0
8	0.159 ± 0.015	0
10	0.118 ± 0.011	0
12	0.091 ± 0.011	0

3 讨论

有资料证明, 中华鳖腐皮病是由温和气单胞菌 *A. sobria*、嗜水气单胞菌 *A. hydrophila*、豚鼠气单胞菌 *A. caviae*、维隆气单胞菌 *A. veronii* 等多种气单胞菌感染所致(崔青曼等, 1998; 薛红玲, 2000; 吴惠仙, 2004; 沈文英等, 2010; 罗方兴等, 2013; 郑天伦, 张海琪, 2015)。本实验从患病中华鳖体内检测出鳗气单胞菌, 为革兰氏阴性短杆状。经感染实验, 与常见腐皮病症状相同并具有高致死率。中华鳖腐皮病常规治疗药物是抗生素(崔青曼等, 1998; 薛红玲, 2000; 张德群, 2000; 张泰蒂, 2003), 抗生素的泛用、滥用, 已经不仅局限在人体医疗方面, 也泛滥于家禽牲畜、水产等行业。土霉素、青霉素、庆大霉素等低廉的抗生素原料被广泛掺入家禽牲畜、水产等饲料, 而由此造成的危害远远大于人类抗生素过度使用所带来的一系列副反应。但现代高密度集约化的养殖模式, 病菌感染尤为常见和多发, 从而造成实际应用中抗生素使用的必要性与政府禁用慎用之间的矛盾, 因此, 寻求新的替代类药物尤为重要。

天蚕素具有广谱杀菌效果(汪以真等, 2004; 李素萍等, 2007; 徐兴军等, 2009; 陈雯等, 2012), 能够对多种水产常见菌株及耐药菌株产生抗菌活性(姜兰等, 2002; 李思明, 2006; Chen *et al.*, 2009; Lee *et al.*, 2013); 溶菌酶对病原菌也具有较强的抑菌活性, 而对诸如芽孢杆菌科 *Bacillaceae* 的有益菌则无抑制能力或抑制能力较弱(卢亚萍, 潘宏涛, 2008; Chen *et al.*, 2014)。本研究表明, 庆大霉素、天蚕素、

溶菌酶及天蚕素和溶菌酶二联法对鳗气单胞菌引起的中华鳖腐皮病均具有保护作用。由死亡率和相对保护率结果分析,与阴性对照组相比,庆大霉素组的死亡率最高,保护效果较差,而联合组的死亡率最低,表明天蚕素和溶菌酶联合使用对中华鳖的保护效果最佳。通过检测中华鳖血细胞吞噬功能、血清凝集效价和血清杀菌活力,结果表明,给药的4组均比阳性对照组的免疫力强,表明这几种药物均具有保护作用;天蚕素组和溶菌酶组的免疫力高于庆大霉素组,而效果最明显的是天蚕素与溶菌酶联合组。

在血药残留的分析中,庆大霉素在停药后有一个明显的代谢高峰,但越到后期,代谢速度愈发减缓,而就是这少量的残留给机体带来一系列的问题。残留的药物浓度无抑菌保护作用,而细菌在这种低剂量药物刺激下产生变异和耐药性,使抗生素失效,如此就不得不加大抗生素用量,形成恶性循环。但溶菌酶的代谢不存在这个问题,体内代谢完全,无任何残留。天蚕素血药残留实验由于试剂出现问题未能完成,有待进一步研究。

目前,天蚕素已在畜牧水产养殖方面被广泛采用,而溶菌酶的应用也逐渐受到重视。本研究将二者联用,起到相辅相成、互助互益的功效,这在国内尚属首次。溶菌酶的发酵产品也已经研发成功,为将来溶菌酶在食品饲料行业的广泛应用奠定了基础。因此,本研究无论从新型抗生素替代治疗方法还是研究结果的实用推广,都具有重要意义。

参考文献:

- 陈琛,吴三桥,薄新文,等. 2014. 天蚕素抗菌肽的性质、功能及应用研究进展[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 42(7): 197-204, 216.
- 陈雯,叶书培,李秋燕,等. 2012. 两栖类动物抗菌肽对病原微生物作用研究进展[J]. 广东农业科学, (16): 175-178.
- 崔青曼,袁春营,张跃红. 1998. 中华鳖腐皮病病原菌及防治药物研究[J]. 水利渔业, (5): 13-14.
- 单红,周国勤,朱银安,等. 2012. 鱼类抗菌肽的研究进展[J]. 水产养殖, 33(1): 20-25.
- 丁明德. 2015. 中华鳖常见病防治[J]. 湖南农业, (9): 20-21.
- 侯振平,印遇龙,王文杰,等. 2011. 乳铁蛋白素 B 和天蚕素 P1 对投喂大肠杆菌断奶仔猪生长及肠道微生物区系的影响[J]. 动物营养学报, 23(9): 1536-1544.
- 姜兰,白俊杰,邓国成,等. 2002. 重组抗菌肽的制备及其对水产养殖中常见病原菌的抑菌效果[J]. 中国水产科学, 9(2): 152-156.
- 李冠楠,夏雪娟,隆耀航,等. 2014. 抗菌肽的研究进展及其应用[J]. 动物营养学报, 26(1): 17-25.
- 李思明. 2006. 鳄鱼抗菌肽的分离纯化和抗菌效果研究[D]. 成都: 四川农业大学.
- 李素萍,付玉明,常彦忠,等. 2007. Hepsidin 在哺乳类及鱼类中的表达和作用[J]. 四川动物, 26(1): 221-226.
- 梁英. 2014. 抗菌肽的来源及应用[J]. 动物营养学报, 26(1): 7-16.
- 刘莹,金贤子,杨翔华,等. 2006. 微生物溶菌酶在饲料工业中的应用及其展望[J]. 兽药与饲料添加剂, 11(1): 16-18.
- 卢亚萍,潘宏涛. 2008. 溶菌酶的研究现状及应用进展[J]. 饲料与畜牧, (2): 26-27.
- 罗方兴,毛盼,王荣华,等. 2013. 中华鳖腐皮病的病原鉴定与药敏试验[J]. 水生态学杂志, 34(3): 85-89.
- 吕尊周,袁肖笑,蔡兆伟,等. 2011. 抗菌肽对蛋鸡血清免疫指标及脾脏白细胞介素 2 mRNA 表达量的影响[J]. 动物营养学报, 23(12): 2183-2189.
- 沈文英,李卫芬,高研. 2010. 中华鳖病原性维隆气单胞菌的分离及药敏试验[J]. 水生生物学报, 34(5): 1060-1064.
- 汪以真,王中强,许梓荣. 2004. 抗菌肽与抗生素的体外抗菌效果[J]. 中国预防兽医学报, 24(3): 270-273.
- 王坛,华雪铭,朱伟星,等. 2016. 饲料中添加溶菌酶对吉富罗非鱼生长、免疫-抗氧化功能及血清抗菌性能的影响[J]. 水生生物学报, 40(4): 663-671.
- 吴惠仙. 2004. 中华鳖六株病原菌的分类鉴定及其中草药拮抗研究[J]. 中国预防兽医学报, 26(5): 372-375.
- 徐兴军,陈丽,吕建伟,等. 2009. 中国林蛙和中华蟾蜍皮肤抗菌肽的分离纯化及其抗菌活性[J]. 四川动物, 28(2): 164-167.
- 徐永平,汪婷婷,孙永欣,等. 2011. 水产动物溶菌酶研究的最新进展[J]. 水产科学, 5: 307-310.
- 薛红玲. 2000. 中华鳖腐皮病防治的研究[J]. 淡水渔业, 30(4): 33-35.
- 严沁,张传强,智达夫,等. 2015. 抗菌肽在动物生产上的应用[J]. 畜牧与饲料科学, 36(12): 92-93.
- 杨向科,邹艳丽,孙谧,等. 2005. 海洋微生物溶菌酶的抑菌作用及抑菌机理初步研究[J]. 海洋水产研究, 26(5): 62-68.
- 尹昆仑,王嘉榕,孙红宾. 2015. 抗菌肽的研究进展及应用前景[J]. 中国生化药物杂志, 35(5): 181-185.
- 张德群. 2007. 鳖病的诊断与防治[M]. 合肥: 安徽科学出版社: 27.
- 张泰蒂. 2003. 中华鳖腐皮病的药物控制[J]. 水利渔业, 23(1): 61-62.
- 张琇,吴发兴,孙谧,等. 2007. 海洋微生物溶菌酶体外抗菌抗病毒活性研究[J]. 中国农业科学, 40(11): 2626-2631.
- 郑天伦,张海琪. 2015. 中华鳖腐皮病的病原鉴定与药敏研究[J]. 浙江农业学报, 27(1): 32-36.
- Chen X, Zhu F, Cao Y, et al. 2009. Novel expression vector for secretion of cecropin AD in *Bacillus subtilis* with enhanced antimicrobial ac-

- tivity [J]. *Antimicrobial Agents & Chemotherapy*, 53 (9): 3683-3689.
- Chen Y, Zhu X, Yang Y, *et al.* 2014. Effect of dietary lysozyme on growth, immune response, intestine microbiota, intestine morphology and resistance to *Aeromonas hydrophilia* in gibel carp (*Carassius auratus gibelio*) [J]. *Aquaculture Nutrition*, 20(3): 229-241.
- David WH, Ayyalusamy R. 2008. Studies on anticancer activities of antimicrobial peptides [J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1778 (2): 357-375.
- Dias R, Vilas-Boas E, Campos FM, *et al.* 2015. Activity of lysozyme on *Lactobacillus hilgardii* strains isolated from Port wine [J]. *Food Microbiology*, 49: 6-11.
- Guzzo F, Cappello MS, Azzolini M, *et al.* 2011. The inhibitory effects of wine phenolics on lysozyme activity against lactic acid bacteria [J]. *International Journal of Food Microbiology*, 148(3): 184-190.
- Hultmark D, Steiner H. 1980. Insect immunity: purification and properties of three inducible bactericidal proteins from hemolymph of immunized pupae of *Hyalopra ceropia* [J]. *European Journal of Biochemistry*, 106: 7-16.
- Lee E, Jeong KW, Lee J, *et al.* 2013. Structure-activity relationships of cecropin-like peptides and their interactions with phospholipid membrane [J]. *BMB Reports*, 46(5): 282-287.
- Zaslloff M. 2002. Antimicrobial peptides of multicellular organisms [J]. *Nature*, 415: 389-395.

新书推荐——《新疆兀鹫》

2017年2月,中国第一部关于鹫类的专著《新疆兀鹫》由北京科学出版社出版发行,该书由中国科学院新疆生态与地理研究所马鸣研究员等编著,采用B5版面,全书共九章214页,约26.8万字。

全球共有鹫类23种,中国有8种,分别为胡兀鹫 *Gypaetus barbatus*、白腰兀鹫(拟兀鹫) *Gyps bengalensis*、高山兀鹫 *G. himalayensis*、欧亚兀鹫 *G. fulvus*、细嘴兀鹫 *G. tenuirostris*、秃鹫 *Aegypius monachus*、黑兀鹫 *Sarcogyps calvus* 和白兀鹫 *Neophron percnopterus*,是世界上鹫类资源最丰富的国家之一。虽然我国所有鹫类均被列为国家Ⅰ级或Ⅱ级重点保护野生动物,然而受环境污染、兽药滥用、食物中毒、栖息地丧失、偷猎、传统药材与食物利用等多种因素影响,鹫类种群生存现状令人堪忧。基于此,马鸣研究员领导的团队在国家自然科学基金资助下,于2012年开始研究以高山兀鹫和天山地区秃鹫为代表的鹫类在新疆的繁殖及种群生存现状,经过多年的积累写成本书。本书详细介绍了该团队采用定位观察与标记、红外相机监视、多旋翼遥控飞行器寻踪、卫星定位、残留食物采集与分析等研究方法获得的初步结果。此外,书中还介绍了许多鹫类相关的知识,比如鹫类的起源与鹫文化等。作者希望通过本书的介绍,让更多人了解鹫类、关注鹫类,最终为鹫类的生存与保护尽一份力。