

## 雏鸡柔嫩艾美耳球虫感染 与体内 NO 的生成

申兆菊, 朱蓓蕾, 蒋金书

(中国农业大学动物医学院, 北京 100094)

**摘要:** 本实验研究了雏鸡柔嫩艾美耳球虫(*Eimeria tenella*)感染与其体内一氧化氮生成的剂量-效应关系和时间-效应关系。在预试基础上, 1日龄黄羽肉用雏鸡饲喂基础日粮2周后, 随机分成对照组和 $0.5 \times 10^4$ 、 $1.0 \times 10^4$ 、 $2.0 \times 10^4$ 、 $3.0 \times 10^4$ 、 $4.0 \times 10^4$ 个卵囊/只鸡(以下简称个/只)感染组, 每组13只鸡, 用于剂量-效应实验。同时, 以 $2.0 \times 10^4$ 个/只的剂量感染鸡群进行时间-效应实验。剂量-效应实验: 在雏鸡感染球虫后第5d采血测量雏鸡血浆亚硝酸盐含量。结果表明, 感染组雏鸡的亚硝酸盐水平与对照组相比明显升高( $P < 0.05$ ); 在 $0.5 \times 10^4 \sim 3.0 \times 10^4$ 个/只的感染范围内, 实验鸡血浆亚硝酸盐水平随着感染剂量的增加而升高。时间-效应实验: 从感染的第0d开始, 连续14d, 每天采血测血浆的亚硝酸盐水平, 结果表明, 雏鸡在感染*Eimeria tenella*后, 其血浆亚硝酸盐的水平比感染前明显升高( $P < 0.05$ ), 并在感染后5d末(118h)或6d初(126h)达到最大值。本实验结果提示, 一氧化氮可能参与了*E. tenella*球虫的感染过程。

**关键词:** *Eimeria tenella*; 一氧化氮; 亚硝酸盐; 雏鸡

中图分类号: S852.72 文献标识码: A 文章编号: 0366-6964(2001)03-0270-07

一氧化氮(Nitric oxide, NO)是机体内产生的一个重要的信使分子和效应分子。因其在机体循环系统、消化系统、神经系统以及呼吸系统中所起的重要作用, NO被美国Science杂志命名为1992年的明星分子, 而对此作出重要贡献的美国科学家Furchgott、Ignarro和Murad获得了1998年度的生理学 and 医学诺贝尔奖。目前已有实验结果表明, NO可能参与了血吸虫<sup>[1-3]</sup>、弓形虫<sup>[4,5]</sup>、疟原虫<sup>[6,7]</sup>和线虫<sup>[8]</sup>以及各种细菌、真菌等对宿主的作用和生长发育, 有时甚至对它们具有杀灭作用。

现已阐明, 动物机体的许多组织能合成一氧化氮(Nitric oxide, NO)。催化NO合成的酶为一氧化氮合成酶(Nitric oxide synthase, NOS)。NO在机体内的合成过程如下: NOS以L-精氨酸(Arginine, Arg)和分子氧为底物, 还原型辅酶II(NADPH)作为辅助因子提供电子, 黄素单核苷酸(FMN)、黄素腺嘌呤二核苷酸(FAD)和四氢生物喋呤(BH<sub>4</sub>)传递电子, 从而生成中间体对羟基-L-精氨酸, 最后生成NO和L-胍氨酸。其中NOS是NO合成过程中最主要的限速因子。NOS有两种, 即原生型NOS(constructive NOS, cNOS)和诱导型NOS(inducible NOS, iNOS)。cNOS在机体内不断地表达, 它催化生成的NO主要起着舒张血管、传递信息和抑制血小板聚集和粘附的作用; iNOS平时不表达, 只有在受细胞因子或细菌脂多糖

收稿日期: 1999-09-27

作者简介: 申兆菊(1971~), 女, 满族, 辽宁沈阳人, 博士, 研究方向为一氧化氮相关研究, 现在上海交通大学农学院工作。

(Lipopolysaccharide, LPS) 诱导后才表达, 它一旦表达, 将催化大量的 NO 生成, 参与机体免疫及细胞毒性反应。

鸡球虫病是一种普遍发生的, 危害十分严重的疾病。可以说, 几乎所有养鸡的地方都有鸡球虫病发生。集约化养鸡场则是球虫病暴发的最适宜场所, 其球虫病的发病率为 50% ~ 70%, 死亡率为 20% ~ 30%, 严重时高达 80%。两月龄内的雏鸡死亡率很高, 耐过的病鸡长期不能康复, 生长发育受到严重影响。成年鸡多半是带虫者, 这对增重和产蛋量均有很大影响<sup>[9]</sup>。研究球虫感染和宿主的细胞免疫机理对于防治鸡球虫病具有重要意义。

对于 NO 在球虫感染过程中的作用, 目前研究较少。国外只有美国农业部农业研究中心的 Allen 作了一些研究<sup>[10, 11]</sup>, 但在艾美耳球虫感染过程中 NO 究竟起什么作用目前尚不清楚。至今国内还没有人对此进行研究。本实验的目的是研究柔嫩艾美耳球虫(*Eimeria tenella*) 感染过程中雏鸡体内 NO 生成情况, 以探索 NO 是否参与 *Eimeria tenella* 感染过程, 为进一步阐明 NO 在球虫感染中的作用以及新型抗球虫药的研制提供依据。

## 1 材料和方法

**1.1 实验动物和饲养条件** 1 日龄黄羽肉鸡购自中国农科院畜牧所, 在恒温(25℃~ 30℃) 恒湿(45%~ 55%) 实验室条件下饲养, 24 h 照明。实验期间雏鸡自由采食和饮水。基础日粮由中国农科院畜牧所牧场管理处配制, 其组成如下: 玉米: 15.0%, 豆粕: 5.0%, 花生饼: 1.5%, 次粉: 3.0%, 碳酸氢钠: 0.4%, 石粉: 0.2%, 盐: 0.1%, 多种维生素: 100.0 mg/kg, 微量元素: 250.0 mg/kg。

**1.2 实验虫株** *E. tenella* 由中国农业大学寄生虫学教研组保存。

### 1.3 实验方法

**1.3.1 卵囊记数:** 用血球计数板计数重铬酸钾悬液中所含的 *E. tenella* 孢子化卵囊数。取所需要的卵囊量, 离心、水洗 2~ 3 次, 以去除重铬酸钾溶液。再用水重新悬浮定容至  $20.0 \times 10^4$  个卵囊/ml, 根据接种剂量的大小, 用进样器定量吸取需要量卵囊的水悬浮液, 经口接种鸡只。

**1.3.2 血样的采集和 NO<sub>2</sub><sup>-</sup> 的测定:** 以 10.0% 枸橼酸钠作抗凝剂, 从羽下静脉采血, 每次每只鸡采 300 μl, 采集到的血液立即以 3 000 r/min 的速度离心 10 min, 以分离血浆。取 50 μl 血浆按周恒铎方法测定 NO<sub>2</sub><sup>-</sup> 水平<sup>[12]</sup>。

### 1.4 实验设计

**1.4.1 预备实验:** 为了确定最佳感染剂量和取样时间, 我们按表 1 所示设置了各处理组。

**1.4.2 正式实验:** 根据预备实验结果, 分别设置了 0 (对照组) 和  $0.5 \times 10^4$ 、 $1.0 \times 10^4$ 、 $2.0 \times 10^4$ 、 $3.0 \times 10^4$  以及  $4.0 \times 10^4$  个/只 5 个剂量的感染组, 以研究 NO 生成与球虫感染的剂量-效应关系。取健康鸡只, 在实验条件下饲养 13 d 后, 随机分成对照组和感染组, 每组 13 只鸡, 于 2 周龄时进行感染。在感染后第 5 d 末从每组中随机取 9 只鸡测定血浆 NO<sub>2</sub> 水平; 在感染后第 6 d 末剖杀鸡, 按 Johnson 和 Reid 法对盲肠进行病变计分<sup>[13]</sup>。

另外, 设置  $2.0 \times 10^4$  个/只时间-效应(n= 20) 组, 以研究雏鸡感染 *E. tenella* 后第 0~ 14 d 内, 其血浆 NO<sub>2</sub> 水平的变化。

表1 实验设计方案  
Table 1 The experimental design

组别 Groups	感染剂量 Infective dose ( $\times 10^4$ oocysts per chicken)	实验用鸡数 (只) No. of chickens	感染时间 Infective dose (weeks)	取样时间 Time of collecting samples
剂量-效应实验 Dose-effect experiment	0	6	2	感染后第5 d
	1.0	6	2	感染后第5 d
	2.5	6	2	感染后第5 d
	5.0	6	2	感染后第5 d
时间-效应实验 Time-effect experiment	2.5	15	2	感染后第0~14 d <sup>*</sup>

\* 感染前1 d取样作为空白对照;感染后第1 d~7 d每日取样一次;感染后第7 d~14 d隔日取样一次。

\* The sample collected before the day when chickens were infected was taken as control. The sample were collected once, a day after infection from 1 d to 7 d, and once every two days from 8 d to 13 d.

1.5 数据处理 实验结果以  $\bar{x} \pm s$  表示,以 t-检验法比较组间差异。

## 2 结果与分析

2.1 预备实验结果与分析 由表2和表3的实验结果可看出,感染组血浆  $\text{NO}_2^-$  水平与对照组相比明显升高 ( $P < 0.05$ )。在  $1.0 \times 10^4 \sim 2.5 \times 10^4$  个/只的感染范围内,雏鸡血浆  $\text{NO}_2^-$  的水平随着感染剂量的增加而上升,而以  $5.0 \times 10^4$  个/只剂量感染后,  $\text{NO}_2^-$  水平则较  $2.5 \times 10^4$  个/只感染组下降。 $2.5 \times 10^4$  个/只感染组雏鸡血浆的  $\text{NO}_2^-$  水平在感染后比感染前明显升高 ( $P < 0.05$ ),在感染后5 d末(118 h)达到最高值,随后开始明显降低。根据预备实验结果,设置正式剂量-效应实验的感染剂量范围为0(对照组)和  $0.5 \times 10^4$ ,  $1.0 \times 10^4$ ,  $2.0 \times 10^4$ ,  $3.0 \times 10^4$  和  $4.0 \times 10^4$  个/只,取样时间在感染后第5 d末。设置时间-效应实验的感染剂量为  $2.0 \times 10^4$  个/只,取样时间为感染前1 d到感染后第13 d。

表2 预备实验的剂量-效应关系实验结果  
Table 2 The preliminary results of dose-effects experiment

感染剂量 Infective dose ( $\times 10^4$ oocysts per chicken)	血浆 $\text{NO}_2^-$ 水平 Plasma $\text{NO}_2^-$ level ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	盲肠病变计分(分) Lesion scoring
0(对照组)	$2.37 \pm 2.58$	$0.0 \pm 0.0$
1	$9.60 \pm 2.60^a$	$2.2 \pm 1.2$
2.5	$17.17 \pm 8.70^{ab}$	$3.2 \pm 0.8$
5	$14.18 \pm 4.77^a$	$3.7 \pm 0.5$

注: n=6; a. 与对照组比较差异显著 ( $P < 0.05$ ); b. 与  $1.0 \times 10^4$  个/只感染组比较差异显著 ( $P < 0.05$ )。

Notes: a. Significant difference compared with control group ( $P < 0.05$ ), b. Significant difference compared with  $1.0 \times 10^4$  oocysts per chicken infective group ( $P < 0.05$ ).

表 3 预备实验的时间-效应实验结果

Table 3 The preliminary results of time-effect experiment

取样时间 Time of collecting samples (d)	样本数 (只) No. of chickens	血浆 NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> 水平 Plasma NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> level (μg/ml)	取样时间 Time of collecting samples (d)	样本数 (只) No. of chickens	血浆 NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> 水平 Plasma NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> level (μg/ml)
0(0 h)	4	0.24 ± 0.53	5(118 h)	5	13.85 ± 6.06
1(22 h)	4	2.14 ± 0.51	6(142 h)	3	4.81 ± 0.61
2(47 h)	5	1.98 ± 0.71	7(166 h)	3	6.63 ± 0.23
3(70 h)	5	3.09 ± 2.76	9(214 h)	3	6.57 ± 1.53
4(94 h)	5	5.59 ± 1.32	11(262 h)	3	3.13 ± 0.98
			13(311 h)	3	2.34 ± 0.79

\* 感染剂量  $2.5 \times 10^4$  个/只。\* Infective dose  $2.5 \times 10^4$  oocysts per chick.

**2.2 正式实验结果与分析** 从表 4 和表 5 可看出感染组雏鸡血浆 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>水平和对照组雏鸡相比明显升高 ( $P < 0.05$ )。在  $0.5 \times 10^4 \sim 2.0 \times 10^4$  个/只的感染剂量范围内, 雏鸡血浆 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>水平和感染剂量间呈现明显的剂量-反应关系 ( $P < 0.05$ );  $3.0 \times 10^4$  个/只组血浆 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>水平比  $2.0 \times 10^4$  个/只组进一步升高, 但两者间的差异并不显著;  $4.0 \times 10^4$  个/只组有所下降, 但和  $2.0 \times 10^4$  个/只组及  $3.0 \times 10^4$  个/只组比较也未出现显著差异。这和 Allen 等(1997)以 *Eimeria maxima* 和 *Eimeria tenella* 虫株进行实验所观察到的球虫感染后 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>水平上升的结果一致<sup>[10,11]</sup>。此结果表明 *Eimeria tenella* 感染与疟原虫、血吸虫和弓形虫等原虫的感染一样可诱导宿主体内 iNOS 的表达, 使 NO 的生成量增加。以  $4.0 \times 10^4$  个/只以上的剂量感染时, NO<sub>2</sub><sup>-</sup>水平不再继续升高, 这可能是因为球虫感染量过大, 严重损害了肠粘膜组织、血管和淋巴管, 从而影响了 NOS 的活性所致。由表 5 可看出感染球虫后, 雏鸡血浆 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>水平很快明显升高, 在

表 4 正式实验的剂量-效应实验结果

Table 4 The results of dose-effect experiments

感染剂量 Infective dose ( $\times 10^4$ oocysts per chicken)	样本数(只) No. of chickens	血浆 NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> 水平 Plasma level(μg/ml)	盲肠病变计分(分) Lesion scoring
0( Control)	13	0.13 ± 0.31	0.0 ± 0.0
0.5	13	0.98 ± 1.22 <sup>a</sup>	1.5 ± 0.5
1.0	13	3.06 ± 1.68 <sup>ab</sup>	1.7 ± 0.7
2.0	13	6.39 ± 2.43 <sup>abc</sup>	2.1 ± 0.9
3.0	13	11.23 ± 5.57 <sup>abc</sup>	2.8 ± 0.8
4.0	13	8.21 ± 2.73 <sup>abc</sup>	2.8 ± 1.0

注: a. 与对照组比较差异显著 ( $P < 0.05$ ); b. 与  $0.5$  万/只感染组比较差异显著 ( $P < 0.05$ ); c. 与  $1$  万/只感染组比较差异显著 ( $P < 0.05$ )。

Notes: a. Significant difference compared with control group, b. Significant difference compared with  $0.5 \times 10^4$  oocysts per chicken infected group ( $P < 0.05$ ), c. Significant difference compared with  $1.0 \times 10^4$  oocysts per chicken infected group ( $P < 0.05$ ).

表5 正式时间-效应实验结果  
Table 5 The results of time effect experiment

取样时间 Time of collecting samples (d)	样本数 (只) No. of chickens	血浆 NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> 水平 Plasma level (μg/ml)	取样时间 Time of collecting samples (d)	样本数 (只) No. of chickens	血浆 NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> 水平 Plasma level (μg/ml)
0(0 h)	6	1.79 ± 2.27	5(126 h)	6	13.88 ± 1.83
1/3(7 h)	6	6.73 ± 2.10	6(148 h)	6	8.32 ± 1.80
1(26 h)	6	6.05 ± 3.16	7(173 h)	6	6.84 ± 1.27
2(53 h)	6	3.78 ± 2.49	9(221 h)	6	4.12 ± 2.50
3(77 h)	6	6.16 ± 3.24	11(267 h)	6	4.12 ± 1.11
4(100 h)	6	9.68 ± 1.99	13(315 h)	6	5.82 ± 3.15

感染剂量  $2.0 \times 10^4$  个/只。Infective dose  $2.0 \times 10^4$  oocysts per chicken.

5 d末(118 h)或6 d初(126 h)达到最大值,此时间与感染鸡的肠粘膜和微血管损害最严重的时间,以及雏鸡经粪便开始排卵囊的时间是一致的<sup>[14]</sup>。此结果提示由 iNOS 催化生成的大量的 NO 参与了由 *Eimeria tenella* 球虫感染引起的宿主细胞免疫反应。

### 3 讨论

王根生等(1996)对小鼠所做的实验结果表明,小鼠血浆 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>水平与其血浆 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>/NO<sub>3</sub><sup>-</sup>水平是相平行的<sup>[15]</sup>。根据上述结果,本实验仅用血浆 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>水平来反映体内 NO 生成情况,以节省测定费用和实验时间。

NO 生成的底物为 L-精氨酸。它是一种必需氨基酸,需由饲料供给,因此饲料中 L-精氨酸的含量在一定程度上可影响血浆 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>水平的高低。各批饲料间 L-精氨酸含量的差异可能是导致同一实验室不同批实验间实验数据误差较大的原因之一。另外机体内的 iNOS 可受细菌脂多糖、肿瘤坏死因子、干扰素等多种因子以及微生物的诱导,这可能也是实验结果误差产生的原因之一。

由于机体内 NO 的生成受饲料中 L-精氨酸含量以及多种因子和微生物的影响,在实验过程中应严格控制实验动物的饲养条件,以保证实验结果的准确性。

本实验结果提示,由 iNOS 催化生成的 NO 参与了 *Eimeria tenella* 感染过程,至于 NO 究竟在球虫的感染过程中以及宿主的免疫反应中起什么样的作用,尚待通过利用 NOS 选择性抑制剂以及 RT-PCR 等多种实验技术作进一步研究。

#### 参考文献:

- [1] James SL, Glaven J. Macrophage cytotoxicity against schistosomula of *Schistosoma mansoni* involves arginine-dependent production of reactive nitrogen intermediates[J]. J Immunol, 1989, 143: 4208~ 4212.
- [2] Oswald IP, Eltoun I, Wynn T A, Schwartz B, et al. Endothelial cells are activated by cytokine treatment to kill an intravascular parasite, *Schistosoma mansoni*, though the production of nitric oxide[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1994, 91(3): 999~ 1003.
- [3] Wynn TA, Oswald IP, Eltoun IS, et al. Elevated expression of Th1 cytokines and nitric oxide synthase in the

- lungs of vaccinated mice after challenge infection with *schistosoma mansoni* [J]. J Immunol, 1994, 153: 5200.
- [4] Bohne W, Heesemann J, Gross U. Reduced replication of toxoplasma gondii is necessary for induction of bradyzoite-specific antigens: a possible role for nitric oxide in triggering stage conversion [J]. Infect Immunol, 1994, 62(5): 1761~ 1767.
- [5] Jun CD. Nitric oxide mediates the toxoplasmatatic activity of muring microglial cells *in vitro* [J]. Immunol Invest, 1993, 22(8): 487~ 501.
- [6] Naotunne TS, Karunaweera NO, Mendi KN, et al. Cytokine-mediated inactivation of malarial gametocytes is depenaent on the presence of white blood cells and is involves reactive nitroegen intermediates [J]. Immunology, 1993, 78: 555~ 562.
- [7] Stevenson MM, Tam MF, Wolf SF, et al. U-12-induced protection against blood-stage plasmodium chabaudi as requires IFN- $\gamma$  and TNF- $\alpha$  and occurs via a nitric oxide-dependent mechanism [J]. J Immunol, 1995, 155: 2545~ 2556.
- [8] Rajan TV, Porte P, Yates JA, Keefer L, et al. Role of nitric oxide in host defence against an extracellular metazoan parasite, *Brugia malayi* [J]. Infection and Immunity, 1996, 64(8): 3351~ 3353.
- [9] 甘孟侯, 蒋金书. 畜禽群发病防治 [M]. 第 2 版. 北京: 北京中国农业大学出版社, 1998, 265~ 268.
- [10] Allen PC. Production of free radical species during *Eimeria maxima* infections in chickens [J]. Poultry Science, 1997, 76: 814~ 821.
- [11] Allen, PC. Nitric oxide production during *Eimeria tenella* infections in chickens [J]. Poultry Science, 1997, 76: 810~ 813.
- [12] 周恒铎. 职业中毒检验 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1976: 529~ 530.
- [13] Johnson J, Reid WM. Anticoccidial drugs: lesion scoring techniques in battery and floor pan experiments [J]. Exp Parasitol, 1970, 28: 30~ 34.
- [14] 彼得 L. 朗. 球虫生物学 [M]. 蒋金书, 刘钟灵, 陆信武, 等译. 南宁: 广西科学技术出版社, 1990, 148.
- [15] 王根生, 刘耕陶. 一氧化氮在小鼠肝损伤中的作用 [J]. 中华医学杂志, 1996, 76(3): 203~ 206.

### NITRIC OXIDE PRODUCTION DURING *EIMERIA TENELLA* INFECTION IN CHICKENS

Shen Zhaoju, Zhu Beilei, Jiang Jinshu

(Department of Animal Medicine, China Agricultural University, Beijing 100094, China)

**Abstract:** The objective of this experiment was to gather evidence for production of nitric oxide (NO) during a primary infection with the protozoan parasite, which carries out its life cycle in the ceca of chickens. Relationship of plasma level of nitrite ( $\text{NO}_2^-$ ), stable metabolites of NO, with parasite dose and with time after infection was examined. After feeding of starter feed for two week from one day old, 78 Huangyu broilers were divided into 0 (control),  $0.5 \times 10^4$ ,  $1.0 \times 10^4$ ,  $2.0 \times 10^4$ ,  $3.0 \times 10^4$  and  $4.0 \times 10^4$  oocysts per chick (infective groups) to study the relationship of plasma level of nitrite with the parasite dose. 20 broilers were infected at the dose of  $2.0 \times 10^4$  oocysts per chick to study the relationship of plasma level of nitrite with the time after *Eimeria tenella* infection. The results showed that the level of  $\text{NO}_2^-$  of infective groups was significantly higher than that of control group ( $P < 0.05$ ). When infective dose ranged from  $0.5$  to  $3.0 \times 10^4$  oocysts per

chicken, level of  $\text{NO}_2^-$  increased in a stepwise manner with increasing infective dose. In chicken infected with  $2.0 \times 10^4$  oocysts,  $2.5 \times 10^4$  oocysts, significant increase in plasma  $\text{NO}_2^-$  was seen after infection and reached the highest at 126 h or 118 h, the time when mucosal damage was serious and oocysts were being shed. The results of this experiment give strong evidence that NO has a relationship with *Eimeria tenella* infection.

**Key words:** *Eimeria tenella*; Nitric oxide; Nitrite; Chickens

### 下期目次预告

- 1 引进良种肉牛冻胚规模移植技术研究
- 2 几个绵羊品种线粒体 DNA 限制性片断长度多态性比较研究
- 3 不同断奶日龄仔猪消化道酸度和胃蛋白酶活性的动态变化
- 4 断奶日龄对仔猪肠粘膜形态的影响
- 5 牦牛和普通牛种间杂种公牛睾丸的组织学观测与研究
- 6 硒与维生素 E 对鸡马杜霉素急性中毒的保护作用
- 7 血红蛋白尿奶牛红细胞扫描电镜观察
- 8 鸡血浆纤维连接蛋白的提纯及酶联免疫吸附检测方法的建立
- 9 猪瘟病毒 NS<sub>3</sub> 丝氨酸蛋白酶功能区基因的克隆及其在大肠杆菌中的高效表达
- 10 伪狂犬病病毒 Fa 株 gp<sup>63</sup>(gI) 基因转移载体质粒的构建
- 11 禽大肠杆菌病免疫保护机理的研究
- 12 急性感染肝片吸虫水牛的某些免疫反应研究
- 13 人工感染雏鹅新型病毒性肠炎病理形态学发展规律的研究
- 14 肝片形吸虫雷蚴与尾蚴的扫描电镜观察
- 15 沙拉沙星对大鼠生殖毒性和致畸性的研究