

doi: 10.3969/j.issn.2095-0780.2012.06.004

## 吉富罗非鱼家系构建及抗病力检测

朱佳杰, 李莉萍, 唐瞻杨, 周宇, 罗永巨, 甘西

(广西壮族自治区水产研究所, 广西水产遗传育种与健康养殖重点实验室, 广西南宁 530021)

**摘要:** 文章以吉富罗非鱼(GIFT strain *Oreochromis niloticus*)为研究对象, 按照1雄配1雌原则进行家系配对, 待家系鱼生长至50~60 g·尾<sup>-1</sup>时人工感染无乳链球菌(*Streptococcus agalactiae*) (菌株GD001)。通过对GD001菌株半数致死浓度测定及各家系感染死亡率的统计, 研究了GD001无乳链球菌感染对各家系吉富罗非鱼抗病力的影响。结果表明, 1) 配对成功家系67个, 经繁殖性能筛选后留种53个, 家系留种率为79.1%; 2) GD001菌株的半数致死浓度为 $4 \times 10^8$  cfu·mL<sup>-1</sup>, 感染后2~6 d为死亡高峰期; 3) GD001菌感染53个家系后有11个家系的成活率在90%以上, 15个家系的成活率在70%~89%, 19个家系的成活率在30%~69%, 8个家系的成活率低于30%, 表明不同家系对GD001菌株的抗病力存在着显著的差异( $P < 0.05$ )。

**关键词:** 吉富罗非鱼; 家系; 抗病力; 无乳链球菌

中图分类号: S 965.125

文献标志码: A

文章编号: 2095-0780-(2012)06-0022-06

## Family establishment and disease resistance of different families of GIFT Nile tilapia *Oreochromis niloticus*

ZHU Jiajie, LI Liping, TANG Zhanyang, ZHOU Yu, LUO Yongju, GAN Xi

(Guangxi Key Lab. of Aquatic Genetic Breeding and Healthy Aquaculture, Guangxi Institute of Fisheries, Nanning 530021, China)

**Abstract:** The families of GIFT strain Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) were established by pair-mating and the juveniles (50~60 g) in each family were challenged by *Streptococcus agalactiae* (GD001 strain). According to the median lethal concentration (LC<sub>50</sub>) and infection mortality rate of each family, we evaluated the disease resistance of GIFT strain Nile tilapia to the challenge of *S. agalactiae* GD001 strain. The results show that: 1) 67 full-sibling families were successfully established, and 53 families (79.1%) were maintained based on their reproductive performance; 2) The LC<sub>50</sub> of *S. agalactiae* GD001 strain to tilapia was  $4 \times 10^8$  cfu·mL<sup>-1</sup>; 3) Among the 53 families, 11 families had survival rate of over 90%, 15 families (70%~89%), 19 families (30%~69%) and 8 families (less than 30%). It is suggested that the disease resistances of different GIFT families challenged with *S. agalactiae* were significantly different ( $P < 0.05$ ).

**Key words:** GIFT tilapia; family; disease resistance; *Streptococcus agalactiae*

吉富罗非鱼(GIFT strain *Oreochromis niloticus*)是利用尼罗罗非鱼的4个亚洲品系和4个非洲品系杂交选育而成的新品种<sup>[1]</sup>, 具有生长速度快、产

量高、起捕率高、易饲养等特点, 已成为中国罗非鱼养殖的主导品种, 其养殖面积占全国罗非鱼养殖总面积的60%以上<sup>[2]</sup>。近年来随着罗非鱼养殖业

收稿日期: 2012-06-08; 修回日期: 2012-07-20

资助项目: 广西区水产畜牧兽医局科研计划(桂渔牧科1204903); 广西壮族自治区公益性科研院所专项基金(GXIF-2012-15); 国家现代农业产业技术体系建设专项(CARS-49)

作者简介: 朱佳杰(1981-), 男, 助理研究员, 从事鱼类遗传育种研究。E-mail: zhujiajie504@sina.com

通讯作者: 甘西, E-mail: ganxien@126.com

的快速扩展, 由养殖密度、饲料和水质等引起的病害逐渐增多, 其中由链球菌病引起的危害最大。2008年~2011年广东、海南、广西、福建等地相继暴发罗非鱼疫病, 经鉴定大部分病原菌为无乳链球菌(*Streptococcus agalactiae*), 发病率为40%~70%, 发病鱼的死亡率超过95%<sup>[3]</sup>, 给养殖户造成了巨大的经济损失, 严重危害到罗非鱼养殖业的健康持续发展。因此, 加强对罗非鱼抗病品种的选育, 尤其是针对无乳链球菌病开展选育, 已经成为解决罗非鱼病害的关键。国内外在水产抗病品种选育方面已开展了一系列的工作。MILLER等<sup>[4]</sup>通过分子辅助育种技术筛选出大西洋鲑(*Salmo salar*)疾病敏感家系; 陈松林等<sup>[5]</sup>和徐田军等<sup>[6]</sup>先后培育出抗鳃弧菌(*Vibrio anguillarum*)病牙鲆(*Paralichthys olivaceus*)和半滑舌鳎(*Cynoglossus semilaevis*)新品种; 张庆文等<sup>[7]</sup>育出了抗白斑综合症病(white spot syndrome virus)的中国对虾(*Fenneropenaeus chinensis*)。目前国内罗非鱼的研究主要集中在性别控制<sup>[8-10]</sup>、生长发育<sup>[11-12]</sup>及耐寒选育<sup>[13-14]</sup>等方面, 开展罗非鱼抗病品系选育相关报道甚少。此试验通过大规模构建吉富罗非鱼家系, 并对家系鱼进行无乳链球菌感染评估, 筛选出感染后成活率高的家系和成活率低的易感家系, 为开展吉富罗非鱼抗病品系选育及抗病相关分子标记筛选研究提供试验材料。

## 1 材料与方 法

### 1.1 试验材料

试验鱼取自国家级广西南宁罗非鱼良种场, 该场2003年从国家级青岛罗非鱼良种场引进的P3代吉富罗非鱼, 引进后主要以生长速度和出肉率为主要性状进行群体选育, 目前已选育至P8代。通过对吉富罗非鱼群体的遗传背景、生长速度、体型、体色、条纹等性状分析, 挑选出雌、雄各80尾作为构建家系的亲本。随机抽取5尾鱼的脑、肝脏和肾脏组织在牛脑心浸液(BHIA)固体培养基上划线接种, 28℃恒温箱培养24h, 如培养基无细菌生长, 说明这些鱼未感染罗非鱼链球菌<sup>[15]</sup>。

感染试验用的无乳链球菌菌株GD001为广西水产研究所鱼病防治研究室馈赠, 经过该研究室鉴定此菌株具有较强的毒力和广西地区发病代表性。

### 1.2 家系构建

2011年5月~7月在广西水产研究所那马淡水中试基地进行吉富罗非鱼亲鱼随机配对。按1雄配

1雌原则网箱配对, 共配组家系75个, 待家系产苗后将亲本捞出, 在网箱中将鱼苗培育至1月龄时根据亲鱼的产苗量对家系进行选留。

### 1.3 家系鱼抗病能力测定

1.3.1 试验鱼准备 在网箱中将鱼苗培育至50~60g, 随机在10个家系中各取3尾鱼的脑和肝脏组织进行BHIA固体培养基接种鉴定是否感染链球菌。感染试验前先将大桶用0.5%高锰酸钾溶液浸泡2h消毒, 然后冲洗干净, 试验鱼暂养在水温为30℃的大桶中8~10d, 每天早晚各投喂饵料1次, 每隔2d换半桶水, 正常充气, 试验开始1d前暂停投饵料。

1.3.2 GD001菌半数致死浓度测定 用接种环钩取-80℃保存的GD001无乳链球菌在固态TSA培养基上划线, 28℃培养24h, 然后用灭菌枪头挑取单菌落用液态TSB(参见王瑞<sup>[16]</sup>)扩大培养约24h, 用生理盐水调整菌液的浓度为 $5 \times 10^{11}$  cfu·mL<sup>-1</sup>, 并分别按1倍、10倍、100倍、1000倍和10000倍5个浓度梯度稀释。随机取1个家系的120尾鱼分养在6个试验桶中, 按上述5种浓度分别对5组鱼进行腹腔注射0.2 mL·尾<sup>-1</sup>菌液, 另设置1组注射0.2 mL 0.9%生理盐水作为对照组。注射完成后将鱼放回原试验桶饲养, 水温保持在30℃, 正常饲喂、充气和换水, 每隔3h捞出死亡鱼并记录数量, 待发病停止后统计死亡鱼的数量, 计算出菌液的半数致死浓度。

1.3.3 不同家系鱼无乳链球菌感染评估 参照确定半数致死浓度的操作方法, 对53个家系进行GD001菌人工注射感染, 感染浓度为半数致死浓度, 剂量为0.2 mL, 每个家系取鱼150尾, 设3个重复组, 每组50尾。

### 1.4 统计分析

试验数据采用SPSS 17.0统计软件进行单因素方差分析(One-Way ANOVA), 采用最小显著差法进行各家系间的多重比较。当 $P < 0.05$ 时认为差异显著,  $P < 0.01$ 时差异极显著。并用Excel 2003软件进行绘图。

## 2 结果

### 2.1 家系构建结果

将筛选出的雌、雄吉富罗非鱼各75尾进行随机配对, 共有67个家系产苗, 家系配对成功率为89.3%。1月龄时进行家系产苗量统计, 淘汰鱼苗

数量小于500尾的家系,最终选留产苗量较多的家系共计53个,家系留种79.1%。

## 2.2 不同家系感染GD001菌结果

2.2.1 GD001半数致死浓度测定 不同浓度无乳链球菌GD001感染结果见表1。1倍、10倍、100倍、1000倍和10000倍稀释后感染的死亡率

分别为90%、85%、70%、55%和10%,对照组没有出现死亡。对死鱼的脑和脾脏组织进行BHIA固体培养基细菌分离为阳性,表明这些鱼是因感染了GD001菌而导致死亡。根据Reed-Muech公式<sup>[17]</sup>计算出GD001菌株的半数致死浓度为 $4 \times 10^8$  cfu·mL<sup>-1</sup>。

表1 不同浓度无乳链球菌人工感染结果

Tab. 1 Result of artificial infection of *S. agalactiae* at different concentrations

菌液感染浓度/cfu·mL <sup>-1</sup> microbial concentration	感染鱼/尾 infected fish	死亡鱼/尾 dead fish	致死率/% mortality
$5 \times 10^{11}$ (1倍)	20	18	90
$5 \times 10^{10}$ (10倍)	20	17	85
$5 \times 10^9$ (100倍)	20	14	70
$5 \times 10^8$ (1000倍)	20	11	55
$5 \times 10^7$ (10000倍)	20	2	10
0.9%生理盐水(对照组) 0.9% normal saline (control)	20	0	0

2.2.2 各家系感染GD001菌结果 53个家系共8400尾吉富罗非鱼感染无乳链球菌GD001后的结果见表2和图1。对不同家系的死亡率统计发现,感染12h后部分鱼出现在水面打转或间隙性窜游发病症状,14h后出现死鱼,发病高峰期感染后第2天~第6天,第12天停止死亡。表2显示11个家系鱼(52<sup>#</sup>、80<sup>#</sup>、81<sup>#</sup>、83<sup>#</sup>、89<sup>#</sup>、105<sup>#</sup>、112<sup>#</sup>、87<sup>#</sup>、100<sup>#</sup>、79<sup>#</sup>和98<sup>#</sup>家系)的感染成活率明

显高于其他组,差异极显著( $P < 0.01$ )。图1根据各家系的成活率大小进行排列,笔者将成活率在90%以上的11个家系定义为高抗病家系,成活率在70%~89%的15个家系定义为较强抗病家系,成活率在30%~69%间的19个家系定义为一般家系,成活率低于30%的8个家系定义为易感家系。试验结果表明不同家系对GD001菌株的抵抗能力存在着显著的差别。

表2 不同家系人工感染GD001菌株后的成活率

Tab. 2 Survival rate of different families by artificial infection of GD001 *S. agalactiae*

家系 family	52 <sup>#</sup>	67 <sup>#</sup>	68 <sup>#</sup>	74 <sup>#</sup>	76 <sup>#</sup>	77 <sup>#</sup>	80 <sup>#</sup>	81 <sup>#</sup>	83 <sup>#</sup>
成活率 survival rate	95.38 ± 1.03 **	80.00 ± 2.08 *	65.06 ± 1.09	78.46 ± 3.04	77.63 ± 1.89	10.00 ± 2.08	96.62 ± 2.25 **	96.15 ± 1.64 **	97.69 ± 3.24 **
家系 family	85 <sup>#</sup>	89 <sup>#</sup>	93 <sup>#</sup>	94 <sup>#</sup>	95 <sup>#</sup>	107 <sup>#</sup>	69 <sup>#</sup>	111 <sup>#</sup>	113 <sup>#</sup>
成活率 survival rate	74.00 ± 2.04	95.93 ± 1.54 **	60.77 ± 1.05	67.69 ± 0.93	35.38 ± 0.84	74.62 ± 0.87	61.54 ± 1.08	71.54 ± 1.25	5.38 ± 1.07
家系 family	123 <sup>#</sup>	78 <sup>#</sup>	86 <sup>#</sup>	88 <sup>#</sup>	77 <sup>#</sup>	73 <sup>#</sup>	97 <sup>#</sup>	105 <sup>#</sup>	108 <sup>#</sup>
成活率 survival rate	5.80 ± 2.12	46.90 ± 2.07	82.20 ± 0.94 *	58.90 ± 2.12	80.00 ± 1.48 *	51.40 ± 1.37	89.70 ± 1.13 *	96.30 ± 1.05 **	73.90 ± 2.23
家系 family	106 <sup>#</sup>	82 <sup>#</sup>	75 <sup>#</sup>	110 <sup>#</sup>	112 <sup>#</sup>	87 <sup>#</sup>	104 <sup>#</sup>	100 <sup>#</sup>	65 <sup>#</sup>
成活率 survival rate	50.00 ± 2.31	44.00 ± 2.41	54.10 ± 1.93	83.30 ± 1.82 *	95.40 ± 1.41 **	95.00 ± 0.82 **	85.00 ± 1.21 *	95.40 ± 1.37 **	9.71 ± 3.56
家系 family	79 <sup>#</sup>	90 <sup>#</sup>	92 <sup>#</sup>	98 <sup>#</sup>	103 <sup>#</sup>	101 <sup>#</sup>	125 <sup>#</sup>	118 <sup>#</sup>	114 <sup>#</sup>
成活率 survival rate	96.43 ± 0.58 **	12.33 ± 4.21	61.31 ± 2.67	94.78 ± 0.88 **	12.94 ± 5.04	9.77 ± 3.41	72.31 ± 1.58	70.00 ± 2.01	55.20 ± 2.24
家系 family	117 <sup>#</sup>	102 <sup>#</sup>	96 <sup>#</sup>	84 <sup>#</sup>	119 <sup>#</sup>	109 <sup>#</sup>	66 <sup>#</sup>	115 <sup>#</sup>	
成活率 survival rate	57.20 ± 2.45	45.07 ± 2.83	44.96 ± 2.74	8.27 ± 1.86	87.69 ± 1.37 *	62.00 ± 1.24	86.43 ± 1.62 *	43.00 ± 3.11	

注: \*. 差异显著( $P < 0.05$ ); \*\*. 差异极显著( $P < 0.01$ )

Note: \*. significant difference ( $P < 0.05$ ); \*\*. very significant difference ( $P < 0.01$ )

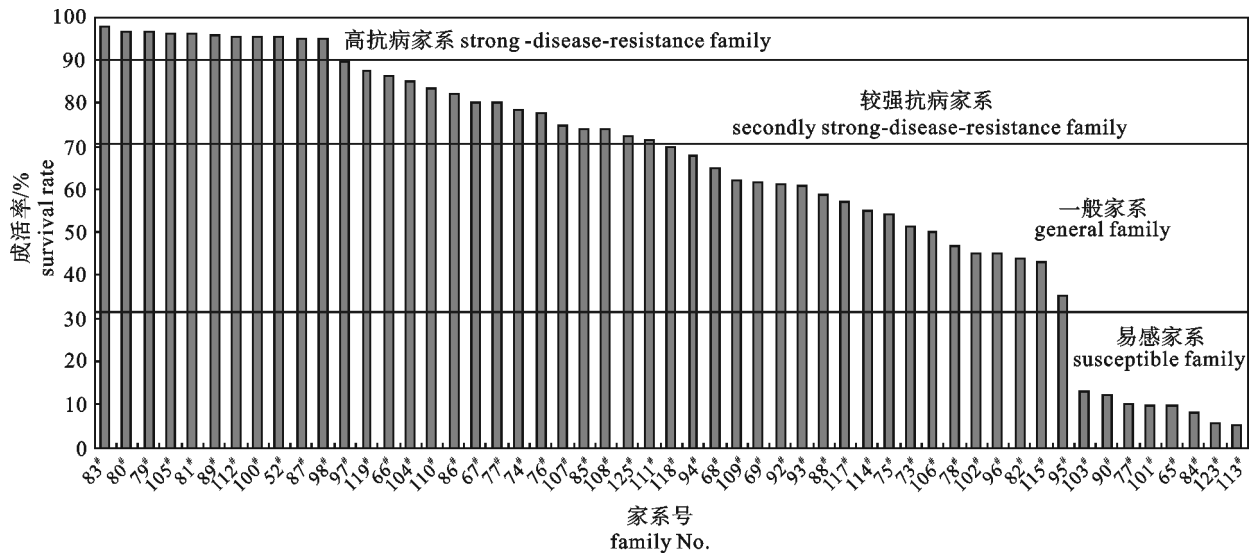


图1 53个吉富罗非鱼家系鱼感染无乳链球菌后的平均成活率

Tab. 1 Average survival rate of 53 GIFT strain Nile tilapia families challenged with *S. agalactiae*

### 3 讨论

目前中国对罗非鱼链球菌病的防治主要依赖抗生素药物治疗<sup>[18-19]</sup>和疫苗免疫<sup>[15,20]</sup>,但长期使用抗生素药物会引发机体耐药性、药物残留、环境污染、食品安全等一系列问题。罗非鱼链球菌疫苗研制技术还有待突破,同时致病菌的突变和地域差异性等原因易导致免疫失败。因此,从遗传本质上提高罗非鱼的抗病能力和机体免疫功能、培育出抗病新品种才是解决养殖病害的关键。张天时<sup>[21]</sup>和孟宪红<sup>[22]</sup>先后通过人工感染白斑综合症病毒已经成功培育出了“黄海1#”和“黄海2#”中国对虾抗病新品种,在相同的条件下其抗WSSV能力比未选育的分别提高了30%和15.85%;陈松林等<sup>[23]</sup>用鳃弧菌感染家系鱼选育出了抗鳃弧菌病的牙鲆新品种,其染病后的成活率比未选育提高30%以上。以上研究表明通过人工感染病原体的途径进行抗病品种选育的方法是有效的。

试验通过家系配对留种了53个家系,这些家系鱼在相同的环境条件下进行养殖和感染,较好地控制了环境因素对于试验结果的影响,使测定结果更能反映出由机体遗传因素方面引起的抗病能力差异。此外由于家系选育的个体遗传背景清晰,对今后进行系谱构建、抗病遗传力、近交系数及遗传多样性分析提供便利。此试验从53个家系中获得11个高抗病家系,较强抗病家系15个,敏感家系8

个,高抗病家系和易感家系在病原菌感染后的成活率上相差80%以上,其原因可能是亲本的遗传抗病力不同,还需要进一步论证。与笔者试验相似的研究工作在大西洋鲑上也获得了成功,GRIMHOLT等<sup>[24]</sup>用气单胞菌(*Aeromonas salmonicida*)和传染性鲑鱼贫血病病毒(infectious salmon anemia virus, ISAV)分别感染大西洋鲑不同家系鱼,从中筛选出抗病力强和对疾病敏感家系。

笔者研究初步证明利用家系选育方法在吉富罗非鱼抗病品种选育上是可行的,虽筛选得到一批高抗病家系和易感家系,但这只是经一次细菌感染之后的结果,这些家系的抗病力能否进行世代遗传,还需要做多个世代感染验证。笔者研究结果为开展吉富罗非鱼抗病新品种的选育及抗病相关分子标记筛选研究奠定了基础。

### 参考文献:

- [1] 刘峰, 谢新民, 郑艳红. 罗非鱼优良品系——吉富罗非鱼的育成始末[J]. 水产科技情报, 2006, 33(1): 8-11.  
LIU Feng, XIE Xinmin, ZHENG Yanhong. Fine strain of tilapia: the grow out of redbelly tilapia *Tilapia zillii*[J]. Fish Sci & Technol Inf, 2006, 33(1): 8-11. (in Chinese)
- [2] 朱佳杰, 李莉萍, 甘西, 等. 高温诱导对吉富罗非鱼雄性率的影响[J]. 安徽农业科学, 2012, 40(2): 830-831, 862.  
ZHU Jiajie, LI Liping, GAN Xi, et al. Effect of temperature induction on male rate of genetically improved farmed tilapia[J]. J Anhui Agri Sci, 2012, 40(2): 830-831, 862. (in Chinese)
- [3] 柯剑. 罗非鱼病原菌分离鉴定及不同品系间抗病力初步比较

- [D]. 上海: 上海海洋大学, 2011.
- KE Jian. Bacteria pathogeny isolation, identification and primary comparative study of disease resistance in tilapia species [D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2011. (in Chinese)
- [4] MILLER K M, WINTON J R, SCHULZE A D, et al. Major histocompatibility complex loci are associated with susceptibility of Atlantic salmon to infectious hematopoietic necrosis virus [J]. *Environ Biol Fish*, 2004, 69(1/2/3/4): 307-316.
- [5] 陈松林, 杜民, 杨景峰, 等. 半滑舌鳎家系建立及其生长和抗病性能测定 [J]. *水产学报*, 2010, 34(12): 1789-1794.
- CHEN Songlin, DU Min, YANG Jingfeng, et al. Development and characterization for growth rate and disease resistance of families in half-smooth tongue sole (*Cynoglossus semilaevis*) [J]. *J Fish China*, 2010, 34(12): 1789-1794. (in Chinese)
- [6] 徐田军, 陈松林, 田永胜, 等. 牙鲆抗鳃弧菌病家系筛选及其分析 [J]. *中国水产科学*, 2010, 17(1): 59-68.
- XU Tianjun, CHEN Songlin, TIAN Yongsheng, et al. Comparative analysis of disease resistance among Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) families [J]. *J Fish Sci China*, 2010, 17(1): 59-68. (in Chinese)
- [7] 张庆文, 刘萍, 王伟继, 等. 中国对虾抗病群体选育的初步研究 [J]. *海洋水产研究*, 2002, 23(2): 53-57.
- ZHANG Qingwen, LIU Ping, WANG Weiji, et al. A preliminary study on genetic selection for disease resistant strain in *Fenneropenaeus chinensis* culture [J]. *Mar Fish Res*, 2002, 23(2): 53-57. (in Chinese)
- [8] EZAZ M T, HARVEY S C, BOONPHAKDEE C, et al. Isolation and physical mapping of sex-linked AFLP markers in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L) [J]. *Mar Biol*, 2004, 6(5): 435-445.
- [9] 杨玲, 孟庆磊, 李娴, 等. 一个奥利亚罗非鱼雌性特异性 SCAR 标记的建立 [J]. *渔业科学进展*, 2011, 32(4): 34-40.
- YANG Ling, MENG Qinglei, LI Xian, et al. Establishment of a female specific SCAR marker in blue tilapia *Oreochromis aureus* [J]. *Prog Fish Sci*, 2011, 32(4): 34-40. (in Chinese)
- [10] 杨东, 余来宁, 张繁荣, 等. 筛选与尼罗罗非鱼性别相关的 AFLP 标记 [J]. *水生生物学报*, 2007, 31(6): 901-905.
- YANG Dong, YU Laining, ZHANG Fanrong, et al. Screen sex-differential DNA fragment in *Oreochromis niloticus* using AFLP [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2007, 31(6): 901-905. (in Chinese)
- [11] 颜晓勇, 李思发, 蔡完其, 等. 吉富品系尼罗罗非鱼生长性能的选择响应分析 [J]. *广东农业科学*, 2011, 38(1): 135-138.
- XIE Xiaoyong, LI Sifa, CAI Wanqi, et al. Selection response to growth performance of F6~F9 of GIFT strain *Oreochromis niloticus* [J]. *Guangdong Agric Sci*, 2011, 38(1): 135-138. (in Chinese)
- [12] 江永明, 付天玺, 张丽, 等. 微生物制剂对奥尼罗非鱼生长及消化酶活性的影响 [J]. *水生生物学报*, 2011, 35(6): 998-1004.
- JIANG Yongming, FU Tianxi, ZHANG Li, et al. Effects of feeding microorganisms on growth performance and the activities digestive enzymes of *Oreochromis niloticus* × *O. aureus* [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2011, 35(6): 998-1004. (in Chinese)
- [13] 段志刚, 吴金英, 李文笙. 低温对罗非鱼类影响的相关研究进展 [J]. *南方水产科学*, 2011, 7(6): 77-82.
- DUAN Zhigang, WU Jinying, LI Wensheng, et al. Research progress on effects of low temperature on tilapia [J]. *South China Fish Sci*, 2011, 7(6): 77-82. (in Chinese)
- [14] 卢其西, 林勇, 宾石玉, 等. 罗非鱼 6 个家系的低温耐寒测定分析 [J]. *广西师范大学学报: 自然科学版*, 2011, 29(2): 104-109.
- LU Qixi, LIN Yong, BIN Shiyu, et al. Analysis of cold tolerance measure at low-temperature in six tilapia families [J]. *J Guangxi Normal Univ: Natural Science*, 2011, 29(2): 104-109. (in Chinese)
- [15] 徐增辉. 罗非鱼海豚链球菌疫苗的研制及免疫效果的初步研究 [D]. 南宁: 广西大学, 2008.
- XU Zenghui. Preparation of *Streptococcus iniae* vaccine and its immunological efficacy on tilapia [D]. Nanning: Guangxi University, 2008. (in Chinese)
- [16] 王瑞. 罗非鱼 ICER 和 PGRN 基因 cDNA 序列及表达分析 [D]. 南宁: 广西大学, 2010.
- WANG Rui. Sequence and expression analysis of the gene encoding ICER and PGRN in tilapia [D]. Nanning: Guangxi University, 2010. (in Chinese)
- [17] 曹澍泽. 兽医微生物学及免疫学技术 [M]. 北京: 北京农业大学出版社, 1992: 49-50; 126-129; 371-373.
- CAO Shuze. *Veterinary microbiology and immunology technology* [M]. Beijing: Beijing Agricultural University Press, 1992: 49-50; 126-129; 371-373. (in Chinese)
- [18] 张彬, 黄婷, 陈福艳, 等. 10 种中草药及 4 种组方对罗非鱼致病性海豚链球菌体外抑菌试验 [J]. *淡水渔业*, 2011, 41(5): 35-39.
- ZHANG Bin, HUANG Ting, CHEN Fuyan, et al. Studies on antibacterial effects of 10 kinds of Chinese medicinal herbs and four combinations on pathogenic *Streptococcus iniae* from tilapia *in vitro* [J]. *Freshw Fish*, 2011, 41(5): 35-39. (in Chinese)
- [19] 王伟利, 罗理, 姜兰, 等. 适温条件下氟苯尼考在罗非鱼体内的药物动力学 [J]. *大连水产学院学报*, 2010, 25(4): 285-288.
- WANG Weili, LUO Li, JIANG Lan, et al. Pharmacokinetics of florfenicol in tilapia fed diet containing the drug [J]. *J Dalian Fish Univ*, 2010, 25(4): 285-288. (in Chinese)
- [20] 黎炯. 罗非鱼无乳链球菌的分离、鉴定及重组表面免疫原性蛋白 His-Sip 的免疫效果初步研究 [D]. 上海: 上海海洋大学, 2011.
- LI Tong. Isolation and identification of *Streptococcus agalactiae* from tilapia and immunogenicity of protein His-Sip recombinant protein [D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2011. (in Chinese)

nese)

[21] 张天时. 中国对虾育种的模型分析与遗传参数评估[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2010.

ZHANG Tianshi. Selective breeding of disease and adverse resistance of *Fenneropenaeus chinensis* [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2010. (in Chinese)

[22] 孟宪红. 中国对虾“黄海2号”对WSSV的抗病性分析[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2010.

MENG Xianhong. The analysis of WSSV resistance of *Fenneropenaeus chinensis* “Huanghai No. 2” [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2010. (in Chinese)

[23] 陈松林, 田永胜, 徐田军, 等. 牙鲆抗病群体和家系的建立

及其生长和抗病性能初步测定[J]. 水产学报, 2008, 32(5): 665-672.

CHEN Songlin, TIAN Yongsheng, XU Tianjun, et al. Development and characterization for growth rate and disease resistance of disease-resistance population and family in Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) [J]. J Fish China, 2008, 32(5): 665-672. (in Chinese)

[24] GRIMHOLT U, LARSEN S, NORDMO R, et al. MHC polymorphism and disease resistance in Atlantic salmon (*Salmo salar*); facing pathogens with single expressed major histocompatibility class I and class II loci [J]. Immunogenetics, 2003, 55(4): 210-219.