

文章编号 : 1004 - 7271(2006) 01 - 0007 - 05

不同规格中国明对虾的非特异性免疫水平

黄旭雄, 周洪琪

(上海水产大学生命科学与技术学院, 上海 200090)

摘要 : 分析了采自同一养殖池塘的 150 尾不同规格的中国明对虾的总血淋巴细胞密度(THCs), 腹肌超氧化物歧化酶(SOD) 活性和溶菌酶活性。结果表明 : 当中国明对虾的体长在 5.5 ~ 11.3 cm, 体重在 1.822 ~ 17.555 g 之间, 中国明对虾溶菌酶活性和血淋巴 THCs 与体长和体重之间均无显著相关性。但腹肌 SOD 活性与体长和体重之间存在一定的正相关, 相关系数分别为 0.559 和 0.436。

关键词 : 中国明对虾 ; 体长 ; 体重 ; THCs ; SOD 活性 ; 溶菌酶

中图分类号 S 917 文献标识码 : A

The innate immune activity of the shrimp *Fenneropenaeus chinensis* with different sizes

HUANG Xu-xiong, ZHOU Hong-qi

(College of Aqua-life Science and Technology, Shanghai Fisheries University, Shanghai 200090, China)

Abstract : 150 shrimp (*Fenneropenaeus chinensis*) were sampled from the same culture pond with different sizes and the total haemocyte counts (THCs), muscular SOD activity and lysozyme activity of the shrimp were studied. There is no significant interrelationship between lysozyme activity and body length or body weight, nor between THCs and body length or body weight respectively when the shrimp size scattered in the range from 5.5 cm to 11.3 cm or 1.822 g to 17.555 g. But the muscular SOD activity of the shrimp is positively interrelated with body length and body weight with a coefficient (r) of 0.559 and 0.436 respectively.

Key words : *Fenneropenaeus chinensis* ; body length ; body weight ; THCs ; SOD activity ; lysozyme activity

在中国明对虾的养殖生产中, 对虾 WSSV 病的发生具有明显的季节性和阶段性, 发病对虾的体长规格一般多在 6 cm 左右^[1]。中国明对虾病害的爆发与机体的免疫机能低下密切相关。已证实环境因子的胁迫会引起多种养殖鱼虾的免疫机能下降并诱发疾病的发生^[2-10]。另外, 研究还发现, 大西洋鳕 (*Gadus morhua*)^[11]、大鳞大麻哈鱼 (*Oncorhynchus tshawytscha*)^[12] 和细脚滨对虾 (*Litopenaeus stylirostris*)^[13] 的部分免疫机能与其体长或体重相关。有关养殖期间不同规格中国明对虾免疫机能的状态, 未见报道。本文分析了不同规格的中国明对虾的总血淋巴细胞密度(THCs), 腹肌超氧化物歧化酶(SOD) 活性和溶菌酶活性, 探讨 WSSV 病的阶段性爆发与中国明对虾生长阶段的关系。

收稿日期 2005-04-19

基金项目 : 上海水产大学校长基金(科 03 - 15), 上海市重点学科建设项目(Y1101)

作者简介 : 黄旭雄(1971 -) , 男, 浙江浦江人, 副教授, 博士, 主要从事水产动物营养与饵料生物培养方面的研究。E-mail : xxhuang@

shfu.edu.cn

1 材料与方法

1.1 试验用虾

试验用中国明对虾为 2003 年 8 月取自江苏赣榆平盛育苗场的一粗放型养殖池塘。池塘面积为 $20 \times 667 \text{ m}^2$, 池塘内共放养有本场培育的两批次的中国明对虾苗。清晨用定置网捕捞中国明对虾。每隔一小时收虾一次。将捕得的健康且处于蜕皮间期的对虾带水运回苗场实验室后立刻取血。共采集了 150 尾不同体长体重规格的对虾。

1.2 指标测定

用吸水纸擦干中国明对虾体表水分, 用 1.0 mL 一次性注射器先吸取定量抗凝剂后插入对虾围心腔中抽取血淋巴, 制成抗凝血用于 THC_s 的测定。采用血球计数板在显微镜下测定 THC_s。然后测定体长和体重, 并取腹肌, 冷冻保存后带回上海测定 SOD 活性和溶菌酶活性。

测定 SOD 和溶菌酶活性时, 先取对虾腹肌样品, 准确称重后, 按 1:10 (W/V) 的比例用 0.1 mol/L, pH=6.4 的 PBS 将腹肌在冰水浴中匀浆。匀浆液在低温下 6 000 r/min 离心 10 min, 取上清待用。

以标准蛋白为参照, 用蛋白试剂盒(南京建成生物工程研究所)测定组织匀浆液上清中的蛋白浓度。采用黄嘌呤氧化法 SOD 试剂盒(南京建成生物工程研究所)测定组织匀浆液上清中 SOD 活性。

溶菌酶活性的测定以溶壁微球菌(*M. lysolei*)冻干粉为底物, 将底物用 0.1 mol/L, PH=6.4 的 PBS 配成一定浓度的悬液($OD_{570} \approx 0.3$)。取 3 mL 的该悬液与 200 μL 的腹肌匀浆液于试管中混匀, 立即在 570 nm 处测透光率 T_0 , 在 37 $^{\circ}\text{C}$ 中水浴 30 min, 然后取出立刻放在冰浴中 10 min 以终止反应, 再测透光率 T 。每个样品平行测定 2 次。以溶菌酶标准品(100 U/L)为参照。对虾组织中溶菌酶活性(AL)的计算方法如下:

$$A_L (\text{U/mgprot}) = (T_{\text{样品}} - T_{\text{样品0}}) / (T_{\text{标准}} - T_{\text{标准0}}) \times \text{标准管酶活力} (\text{U/mL}) / \text{匀浆液蛋白含量} (\text{mg/mL})$$

1.3 数据处理

将获得的 THC_s、溶菌酶和 SOD 活性与对虾体长和体重资料对应后, 作相关性分析, 求算相关方程和相关系数 r , $r = (\sum xy - \sum x \times \sum y/n) / \sqrt{[(\sum x^2 - (\sum x)^2/n) \times (\sum y^2 - (\sum y)^2/n)]}$, 并对 r 值进行 t 检验, $t = r / \sqrt{(1 - r^2) / (n - 2)}$ 。

2 结果

2.1 不同规格中国明对虾腹肌 SOD 活性的比较

当体长为 5.5~11.3 cm 之间, 中国明对虾腹肌中 SOD 活性变动范围界于 7.35~15.18 U/mgprot 之间。随体长的增长, 中国明对虾腹肌中 SOD 活性表现出增加的趋势(图 1)。对体长和 SOD 活性进行线性回归, 得回归方程 $\hat{y} = 0.3555x + 9.687$; 其中 y 为腹肌 SOD 活性 (U/mgprot), x 为体长 (cm), 求得相关系数 $r = 0.559$ 。对相关系数 r 进行 t 检验, 得 $t = 7.444 > t_{0.01, 120} = 2.617$, 表明中国明对虾腹肌 SOD 活性与其体长之间相关极显著。

图 2 为体重与 SOD 活性的关系, 在体重 1.822~17.555 g 之间, 随体重的增长, 中国明对虾腹

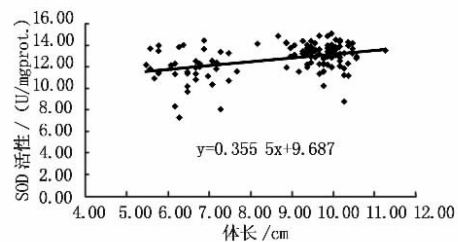


图 1 中国明对虾腹肌 SOD 活性与体长的关系
Fig.1 The relationship between muscular SOD activity and body length of the shrimp *F. chinensis*

肌中 SOD 活性同样表现出增加的趋势。对体重与 SOD 活性进行线性回归,得回归方程: $y = 0.148 2x + 11.496$;其中 y 为腹肌 SOD 活性 ($U/mgprot$), x 为体重 (g), 相关系数 $r = 0.436$ 。对相关系数 r 作 t 检验,得 $t = 5.353 > t_{0.01, 120} = 2.617$, 表明中国明对虾腹肌 SOD 活性与体重之间相关极显著。

2.2 不同规格中国明对虾腹肌溶菌酶活性的比较

图 3、图 4 分别显示了中国明对虾溶菌酶活性与体长、体重的关系。在体长 5.5 ~ 11.3 cm, 在体重 1.822 ~ 17.555 g 之间, 中国明对虾腹肌中溶菌酶活性变动范围界于 1.03 ~ 7.68 $U/mgprot$ 。随虾的生长, 中国明对虾腹肌中溶菌酶活性相对稳定。对体长和溶菌酶活性及体重和溶菌酶活性进行线性回归, 得相关系数 r 分别为 0.149 和 0.109, t 检验表明中国明对虾腹肌溶菌酶活性与体长及体重之间的相关性均不显著。

2.3 不同规格中国明对虾 THC_s 的比较

中国明对虾血淋巴 THC_s 与体长、体重的关系见图 5 和图 6。试验虾的 THC_s 在 $1020 \times 10^4 \sim 6865.2 \times 10^4$ cell/mL。血淋巴 THC_s 与体长的相关系数为 0.106, 与体重的相关系数为 0.127。对相关系数进行 t 检验的结果表明, 中国明对虾血淋巴 THC_s 与体长及体重之间相关性均不显著。

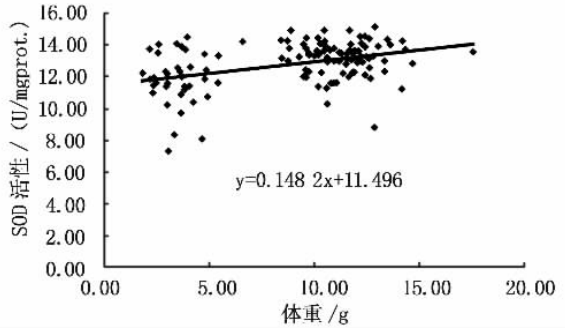


图 2 中国明对虾腹肌 SOD 活性与体重的关系
Fig.2 The relationship between muscular SOD activity and body weight of the shrimp *F. chinensis*

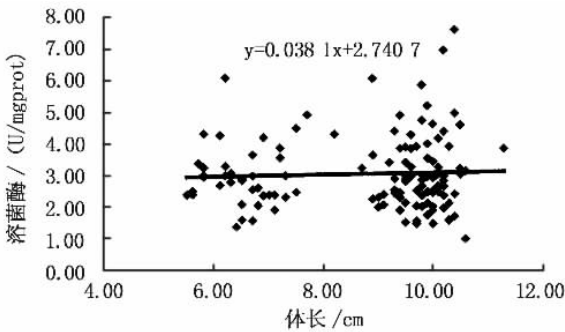


图 3 中国明对虾溶菌酶活性与体长的关系
Fig.3 The relationship between lysozyme activity and body length of the shrimp *F. chinensis*

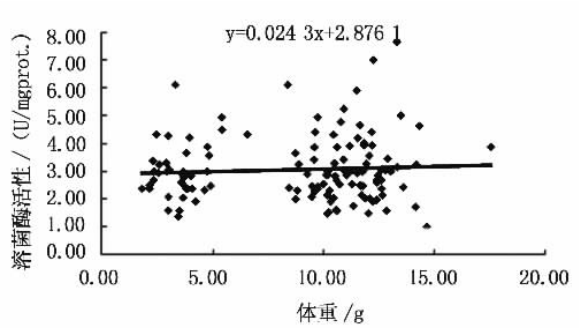


图 4 中国明对虾溶菌酶活性与体重的关系
Fig.4 The relationship between lysozyme activity and body weight of the shrimp *F. chinensis*

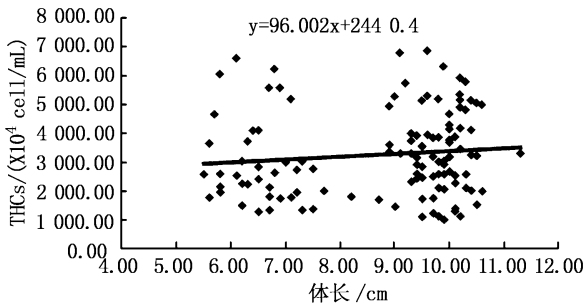


图 5 中国明对虾血淋巴 THC_s 与体长的关系
Fig.5 The relationship between THC_s and body length of the shrimp *F. chinensis*

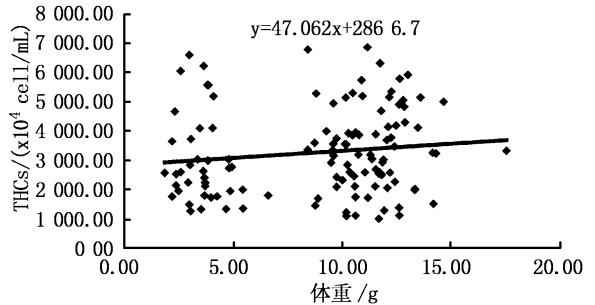


图 6 中国明对虾血淋巴 THC_s 与体重的关系
Fig.6 The relationship between THC_s and body weight of the shrimp *F. chinensis*

3 讨论

在中国明对虾的养殖过程中,对虾爆发性疾病的发生具有明显的季节性和阶段性。发病对虾的体长规格一般多在 6 cm 左右。因此,有必要探讨中国明对虾免疫机能与生长阶段是否具有某种内在的联系。

在高等的哺乳动物中,机体的免疫力在青壮年时期普遍比幼年和老年期强。在鱼类中也发现鱼体的免疫水平与其规格有关。Magnadóttira 等^[11]的研究表明,野生大西洋鳕(*Gadus morhua*)血清免疫参数的大多数指标随体长的增加而增加,但血清的溶血活性随体长的增加而减少。对体重 10~55 g 的大鳞大麻哈鱼(*Oncorhynchus tshawytscha*)的研究也表明,抗原递呈细胞(APC)的数量与体重显著相关,随鱼体体重的增加,APC 数量也增加^[12]。

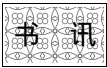
在甲壳动物中,一些内在的因素如性别,大小,蜕皮活动等对机体生理学变化的影响也有报道。Chen 和 Cheng^[14]对 70 尾体重界于 7.56~1.22 g 的日本囊对虾(*Marsupenaeus japonicus*)的研究表明,血淋巴蛋白和血蓝蛋白的含量与随体重的增加而显著增加。Vargas-Albores 等报道体长 8.5~16 cm 的细脚滨对虾(*Litopenaeus stylirostris*)的血细胞凝集活性随体长增长而显著增加^[13]。Mourente 发现从西班牙南海岸海区采捕的雄性红兰虾(*Aristeus antennatus*)的抗氧化酶与体长及年龄密切相关,过氧化氢酶(CAT)和谷胱甘肽转移酶活性随体长的增大而减小,但超氧化物歧化酶(SOD)和总谷胱甘肽过氧化氢酶的活性随体长的增加而增加^[15]。但是,对于体重为 7~115 g 的罗氏沼虾(*Macrobrachium rosenbergii*),研究发现其 THC_s 与体重之间并无相关性^[16]。

本试验中,体长界于 5.5~11.3 cm、体重界于 1.822~17.555 g 的中国明对虾,其血淋巴 THC_s、腹肌溶菌酶活性与体长和体重均无相关性。而腹肌 SOD 活性与体长、体重有一定的正相关性。甲壳动物的血淋巴细胞在机体免疫系统中处于核心地位,甲壳动物的细胞免疫和重要的免疫效应因子都直接或间接与血淋巴细胞相关。因此甲壳动物的 THC_s 可在一定程度上反映机体的免疫应激能力或健康状况,并作为免疫指标之一用于衡量甲壳动物的免疫水平。溶菌酶活性高低是评价对虾免疫机能的另一个重要的评价指标。溶菌酶活性与机体的非特异性免疫水平,特别是机体抗细菌能力密切相关。SOD 是机体内的抗氧化酶,在清除超氧自由基,防止生物分子损伤方面发挥重要的生理作用。同时正常机体的 SOD 活性受体内的超氧自由基的影响,自由基的量少,机体产生的 SOD 活性也小。SOD 活性既是表征机体免疫水平的因子,更是机体综合的生理学变化的表征。因此,总体上可以认为试验用中国明对虾的免疫水平与体长或体重基本无关。

参考文献:

- [1] 蔡生力,黄捷,王崇明,等. 1993~1994 年对虾暴发病的流行病学研究[J]. 水产学报,1995,19(2):112-119.
- [2] Perazzolo L M., Gargioni R, Ogliairi P, et al. Evaluation of some hemato-immunological parameters in the shrimp *Farfantepenaeus paulensis* submitted to environmental and physiological stress[J]. Aquaculture, 2002, 214:19-33.
- [3] Cheng W, Chen S M, Wang F I, et al. Effects of temperature, pH, salinity and ammonia on the phagocytic activity and clearance efficiency of giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* to *Lactococcus garvieae*[J]. Aquaculture, 2003, 219:111-121.
- [4] Cheng W, Liu C H, Kuo C M. Effects of dissolved oxygen on hemolymph parameters of freshwater giant prawn, *Macrobrachium rosenbergii* (de Man)[J]. Aquaculture, 2003, 220:843-856.
- [5] Liu C H, Chen J C. Effect of ammonia on the immune response of white shrimp *Litopenaeus vannamei* and its susceptibility to *Vibrio alginolyticus* [J]. Fish & Shellfish Immunology, 2004, 16:321-334.
- [6] 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.
- [7] Moullac G L, Haffner P. Environmental factors affecting immune responses in Crustacea[J]. Aquaculture, 2000, 191:121-131.
- [8] Jiravanichpaisal P, Söderhäll K, Söderhäll I. Effect of water temperature on the immune response and infectivity pattern of white spot syndrome virus (WSSV) in freshwater crayfish[J]. Fish and Shellfish Immunology, 2004, 17:265-275.
- [9] Cheng W, Liu C H, Hsu J P, et al. Effect of Hypoxia on the immune response of giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* and its susceptibility to pathogen *Enterococcus*[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2002, 13(5):351-365.

- [10] Moullac G L , Soyes C , Saulnier D , *et al.* Effect of hypoxic stress on the immune response and resistance to vibriosis of the shrimp *Penaeus stylirostris* [J]. *Fish & Shellfish Immunology* , 1998 , 8 (8) 621 - 629 .
- [11] Magnadóttira B , Jónsdóttira H , Helgasona S , *et al.* Humoral immune parameters in Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) II. The effects of size and gender under different environmental conditions [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B : Biochemistry and Molecular Biology* , 1999 , 122 (2) : 181 - 188 .
- [12] Harrahy L N M , Schreck C B , Maule A G. Antibody-producing cells correlated to body weight in juvenile chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) acclimated to optimal and elevated temperatures [J]. *Fish & Shellfish Immunology* , 2001 , 11 (8) 653 - 659 .
- [13] Vargas-Albores F , Guzmán A , Ochoa J L. Size-dependent haemagglutinating activity in the haemolymph from sub-adult blue shrimp (*Penaeus stylirostris* Stimpson) [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A : Physiology* , 1992 , 103 (3) 487 - 491 .
- [14] Chen J C , Cheng S Y. Studies in hemocyanin and hemolymph protein levels of *Penaeus japonicus* based on sex , size and moulting cycle [J]. *Comp Biochem Physiol* , 1993 , 106B : 293 - 296 .
- [15] Mourente G , Díaz-Salvago E. Characterization of antioxidant systems , oxidation status and lipids in brain of wild-caught size-class distributed *Aristeus antennatus* (Risso , 1816) Crustacea , Decapoda [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B : Biochemistry and Molecular Biology* , 1999 , 124 (4) 405 - 416 .
- [16] Cheng W , Chen J C. Effect of intrinsic and extrinsic factors on the haemocyte profile of the prawn *Macrobrancium rosenbergii* [J]. *Fish & Shellfish Immunology* , 2001 , 11 (1) 53 - 63 .



《鱼类育种学》重新修订出版

上海水产大学楼允东教授主编,沈俊宝、夏德全、俞豪祥和杨先乐等专家教授参编的《鱼类育种学》一书,是我国第一部系统阐述鱼类育种基本原理与方法,全面反映我国鱼类育种技术先进水平和科研成果的专著,具有较高的学术水平,自1999年10月由中国农业出版社出版后,受到广泛好评。修订本已于最近重新出版发行。

该书为“九五”国家重点图书,得到中华农业科教基金资助。这次修订,对部分章节的内容作了改动与补充,并增加了新的一章。全书共十三章,包括绪论、选择育种、杂交育种、诱变育种、多倍体育种、雌核发育与雄核发育、性别控制技术、体细胞杂交、组织培养技术、基因转移技术、引种与驯化、品种的提纯与复壮以及育种实践中的标记技术等。另外,作者还对有关鱼类育种的诸多问题进行了比较深入的探讨。书中有彩图12幅,插图77幅,参考文献1000多篇。书末有附录5个,包括《我国从国外引进的经济鱼类名录》、《我国已报道的鱼类染色体组型》、《我国已建成的国家级鱼类原、良种场》以及《全国水产原种和良种审定委员会审(认)定通过的鱼类品种简介》等,资料收集至2005年上半年。全书53万字,精装本。定价85元。

该书可供从事鱼类或水产动物遗传育种和水产养殖等领域的学者和科技人员作研究参考,也可供综合性大学与师范院校生命科学学院以及高等水产与农业院校水产养殖专业本科生和研究生作教学参考。需要者可到当地新华书店、科技书店或中国农业出版社读者服务部购买。

读者服务部地址:北京市朝阳区农展馆北路2号,邮编:100026;电话:010-65083260,010-64191582。

本刊编辑部