

研究简报

中华鳖太湖群体和台湾群体非特异性免疫功能比较

蔡完其 官兴文 孙佩芳

(农业部水产增殖生态、生理重点开放实验室; 上海水产大学 200090)

COMPARISON ON THE FUNCTIONS OF NONSPECIFICITY IMMUNITY
BETWEEN TAIHU LAKE POPULATION AND TAIWAN POPULATION
OF SOFT SHELLED TURTLE (*TRIONYX SINENSIS*)

CAI Wann qi, GONG Xing-wen and SUN Pei-fang

(Laboratory of Ecology and Physiology in Aquaculture, Ministry of Agriculture;
Shanghai Fisheries University, 200090)

关键词: 中华鳖; 太湖群体; 台湾群体; 非特异性免疫; 功能

Key words: Soft shelled turtle; Taihu Lake population; Taiwan population; Nonspecific immunity; Function

中图分类号: 947.1 文献标识码: A 文章编号: 1000- 3207(2001)01- 003

近年来,我国养鳖业迅猛发展,鳖种供不应求,台湾稚鳖大量输入大陆。由于引进的稚鳖多从非正规渠道进入,未经检疫,加之对其许多特性尚不清楚,给养殖和疾病防治等带来了新问题。养鳖者普遍反映,台湾鳖病害较多、死亡率较高。作者就此问题已有过初步报道^[1,2]。最近作者对太湖鳖和台湾鳖的非特异性免疫功能进行了比较研究,藉以判断二者抗病力的差异,以期能对水产养殖业有所裨益。

1 材料与方法

- 1.1 鳖 实验用的两种鳖来自上海市闵行区旗忠养鳖场的同一温室的不同鳖池。太湖鳖为从太湖地区收集的野生鳖的后代,台湾鳖为从台湾购买的仔鳖养成,分别代表来自两个地区的群体。每种鳖各取 10 只,共 20 只,体重 300—400g,健康活泼,无发病史。采样前,在同一池内暂养一周,水温 28~ 30℃,以消除环境因子对试验的影响。
- 1.2 菌种 嗜水气单胞菌(*Aeromonas hydrophila*),由本实验室提供。
- 1.3 血清制备 断头取血,滴于离心管中,室温静置 2h,3000r/min 离心 20min,取血清- 20℃保存。
- 1.4 抗体检查(凝集反应) 试验 A:在凹玻片上滴试验用鳖血清 1 滴,生理盐水 1 滴,菌液 1 滴,轻摇玻片,混匀,室温置 10—15min,高倍镜观察有否凝集现象。试验 B:阴性对照,用生理盐水代替血清。试验

收稿日期: 2000- 02- 03; 修订日期: 2000- 04- 04
基金项目: 上海市农委: 农科攻字(97)第 6- 02 号
作者简介: 蔡完其(1939—),女,浙江鄞县人; 教授,博士生导师; 研究方向为水产动物病理和抗病力选育

C: 阳性对照,用被嗜气单胞菌感染过的鳖的血清。参照蔡完其等^[3-5]的方法,进行白细胞吞噬试验和红细胞 C_{3b}受体花环试验。

1.5 T 淋巴细胞活性 E 花环试验 参照李振林等^[6]和杜念兴等^[7]的方法。计算形成的 T 淋巴细胞活性 E 花环的百分率(以一个 T 淋巴细胞上粘附三个或三个以上的 SRBC 为一个花环)。

1.6 补体总量测定 测定仪器采用日本 Boehringer 公司的 Keysys 自动检测仪;测定试剂采用与仪器配套的试剂盒;测定方法采用 Wako Autokit CH₅₀法。

以上各项测定均采用配对法,即任取一只太湖鳖和一只台湾鳖为一对,共 10 组。使用 Paired Sample t 检验对太湖鳖和台湾鳖间的差异进行显著性检验。

2 结果与讨论

2.1 血清抗体检查 在血清抗体检查试验(凝集反应)中,试验鳖的血清和阴性对照试验均无凝集现象,而阳性对照试验有凝集现象。

2.2 太湖鳖和台湾鳖免疫功能差异 太湖鳖和台湾鳖相比,在补体总量方面差异不显著($t = 0.77, < t_{0.05,9} = 1.83$);在红细胞 C_{3b}受体花环百分率($t = 1.50, < t_{0.05,9} = 1.83$)和 T 淋巴细胞活性 E 花环百分率($t = 1.58, < t_{0.05,9} = 1.83$)两方面;太湖群体略高于台湾群体;而在白细胞吞噬百分率方面,太湖群体显著地高于台湾群体($t = 1.94, > t_{0.05,9} = 1.83$)(表 1)。

表 1 中华鳖太湖群体和台湾群体非特异性免疫功能比较

Tab. 1 Comparison on the functions of nonspecific immunity between populations of Taihu Lake and Taiwan of soft shelled turtle

补体总量(Total amount of complement, U/ mL)											
太湖鳖	14.8	14.8	14.9	15.1	14.9	15.1	15.1	14.9	15.2	15.1	14.99±0.15
台湾鳖	14.7	14.8	14.6	15.6	14.8	15.3	14.9	14.9	15.1	15.4	15.01±0.33
											不显著(0.60< P< 0.65)
红细胞 C _{3b} 受体花环率(Erythrocyte C _{3b} receptor rosette, %)											
太湖鳖	7.7	7.6	7.5	7.4	9.7	6.6	6.2	4.7	5.2	7.23±1.65	
台湾鳖	5.7	8.9	6.6	6.7	7.6	6.2	6.0	5.2	5.3	4.9	6.46±1.18
											欠显著(0.05< P< 0.10)
T 淋巴细胞白细胞活性 E 花环率(Erythrocyte active rosette of T lymphocyte, %)											
太湖鳖	9.5	8.0	8.4	8.3	10.1	8.3	11.0	8.9	11.2	7.9	9.16±1.23
台湾鳖	8.1	10.1	8.3	7.2	8.5	7.2	9.4	7.7	8.2	7.1	8.19±1.01
											欠显著(0.05< P< 0.10)
白细胞吞噬率(Phagocytic rate of leucocyte, %)											
太湖鳖	57.5	48.5	59.5	46.5	53.4	44.4	46.8	51.3	57.1	52.4	51.74±5.18
台湾鳖	52.6	47.2	42.3	35.8	35.8	42.2	41.8	43.6	42.0	43.2	42.65±4.90
											显著(0.01< P< 0.05)

2.3 鉴于在中华鳖的各种病害中,嗜水气单胞菌是常见的病原,因此,在本试验的血清抗体检查中,首先检查了试验用鳖的血清是否含有抗嗜水气单胞菌的抗体。经检验,抗体反应均为阴性,这就为其它试验尤其是白细胞吞噬试验的可行性提供了保证。白细胞吞噬是鳖的非特异性免疫的重要组成部分,它具有吞噬和消灭病原微生物的作用。研究发现,太湖鳖的白细胞对嗜水气单胞菌的吞噬百分率显著地高于台湾鳖,表明台湾鳖对嗜水气单胞菌易感性较强。众所周知,嗜水气单胞菌在各养鳖场水体中普遍

存在,是导致穿孔、烂颈、烂脚、红脖及赤斑等症状的主要病原。台湾鳖引进大陆时的疲劳和损伤、由于未经检疫带进新的病原,以及其本身对嗜水气单胞菌的较强的易感性,可能是其在大陆发病率较高的原因之一。

2.4 太湖鳖的 T 淋巴细胞活性 E 花环百分率比台湾鳖高出 11.8%, 差异虽然欠显著,但也在一定程度上表明太湖鳖 T 淋巴细胞的功能稍强。同时,作者注意到,中华鳖的 T 淋巴细胞活性 E 花环百分率在 7%—11% 左右,低于人、畜及禽类的 15%—35%^[9]。这一方面表明中华鳖 T 淋巴细胞表面具有红细胞受体(E 受体),另一方面又表明,鳖作为爬行类,同人及各类高等动物在进化上的差距。

2.5 太湖鳖的红细胞 C_{3b}受体花环比台湾鳖高出 11.9%, 差异也不太显著,不过仍反映了太湖鳖的红细胞对异物的粘附功能略强于台湾鳖。当受到病原微生物等异物的侵害时,红细胞对异物的粘附和清除作用是防御发病的重要功能之一。

2.6 研究补体总量的经典试验方法是,以绵羊红细胞(SRBC)为抗原,以溶血素(抗 SRBC 抗体)为抗体,将二者结合形成免疫复合物,激活补体,溶解 SRBC。然后根据发生 50% 溶血时血清的最小稀释度,换算出样品的补体总量。这种方法的工作量较大,同时多以肉眼比色来判断 50% 溶血,人为误差也较大。本研究的测定方法是在经典方法上作了改进,虽也是通过经典途径激活补体,但是采用 DNP(2,4-二硝基苯酚)为抗原,而且测定工作全部由仪器自动完成,这就大大减少了人为误差。

在以往的研究中,蔡完其等曾对三种鲫、三种鲤和“四大家鱼”的补体总量进行过测定,它们补体总量的范围在 2—7 单位/mL。谢秩勋^[10]报道大熊猫的补体总量为 37.4 单位/mL,李振林等报道人的补体总量为 80—160 单位/mL。本试验测得中华鳖的补体总量为 15 单位/mL 左右。由此可以认为:随着动物进化程度的提高,补体活性亦有所加强,即鱼类< 中华鳖< 大熊猫< 人。

以上报道的是作者对太湖鳖和台湾鳖的非特异性免疫的部分功能的初步研究。今后将视需要和可能予以进一步研究。

参考文献:

- [1] 蔡完其. 中华鳖太湖群体和台湾群体的生长比较研究[J]. 水产科技情报, 1998, 25(6): 250—253
- [2] 蔡完其. 中华鳖台湾群体耶尔森氏菌病的研究[J]. 水产学报, 1999, 23(2): 175—181
- [3] 蔡完其. 三种鲫鱼对暴发性鱼病的抗病力[J]. 水产学报, 1993, 17(1): 44—51
- [4] 蔡完其. 三种鲤鱼对暴发性鱼病的抗病力的差异[J]. 水产学报, 1994, 18(4): 290—301
- [5] 蔡完其. “四大家鱼”对暴发性鱼病的抗病力的种间差异[J]. 中国水产科学, 1995, 2(2): 71—77
- [6] 李振林. 微生物学及其检验技术[M]. 广州: 广东科技出版社 1993
- [7] 杜念兴. 兽医免疫学[M]. 北京: 中国农业出版社. 1995
- [8] 毕爱华. 医学免疫学[M]. 北京: 人民军医出版社. 1995
- [9] 谢秩勋. 大熊猫总补体活性测定初探[J]. 动物学报, 1991, 37(1): 107—108