

久效磷对中国对虾血淋巴溶菌活力和细菌含量的影响*

STUDY ON THE EFFECT OF MONOCROTOPHOS ON ACTIVITY OF LYSOZYME IN HAEMOLYMPH OF *Penaeus chinensis*

白洁 李岍然 李永祺 唐学玺

(青岛海洋大学 266003)

* 溶菌酶是治疗和防御各种细菌感染的有益武器,在人及动物组织中均有存在^[1]。本文研究了久效磷对中国对虾血淋巴的溶菌活力和细菌含量影响,为农药污染与虾病防治提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试验生物为中国对虾(*Penaeus chinensis*),实验用有机磷农药为久效磷,参见文献[2]。

1.1.2 致病菌株 分离自发病的中国对虾血淋巴,经鉴定为溶藻弧菌 25-D。

1.1.3 培养基 异氧菌、弧菌分别采用“2216E”^[3]和 TCBS(据叶孝经等,1986)培养基培养。

1.2 方法

1.2.1 试验条件 参照文献[2]。

1.2.2 试验分组 试验共分8组,第1~5组为正常对虾久效磷胁迫组,药物浓度按对数等比积方法计算^[4],分别为3.2,5.6,10.0,18.0和32.0 $\mu\text{g/L}$;第6组对虾感染弧菌后再经18.0 $\mu\text{g/L}$ 久效磷胁迫;第7组只感染细菌,第8组为空白对照组。

1.2.3 对虾感染细菌 菌悬液制作及注射方法参照文献[5],含菌量为 1.8×10^7 个/ mL ,注射剂量为20 μL /尾。

1.2.4 溶菌活力测定 (1)取血:参照文献[2],于试验开始后24 h和96 h取样,同时作一平行样。(2)测定方法:以溶壁微球菌(由中国科学院海洋研究所丁美丽先生提供)为底物,按Hultmark等^[9]的方法进行,具体操作参照文献[5]。

1.2.5 细菌含量检测 (1)对虾血淋巴:于试验开始后24,96 h分别取第4,6,7组和空白对照组对

虾,无菌操作定量取其血淋巴,分别接种于“2216E”和 TCBS 培养基培养。(2)水体:对第4组和对照组水体进行菌量检测,检测时间、方法同上。

2 结果与分析

2.1 久效磷对正常中国对虾血淋巴溶菌活力的影响

3.2~32 $\mu\text{g/L}$ 久效磷胁迫24 h,对虾血淋巴的溶菌活力有随药物浓度的增加先略增强后逐渐降低的趋势。胁迫96 h,影响只表现为降低作用,这种作用随药物浓度的增加渐增强。结果见图1。

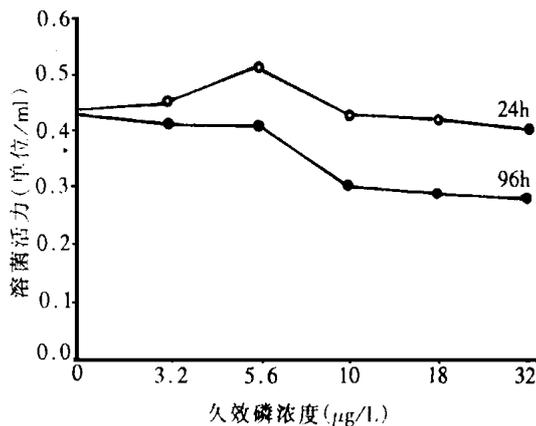


图1 久效磷胁迫对中国对虾血淋巴溶菌活力的影响

* 国家攀登计划 B(PDB6-7-1)资助项目。
收稿日期:1998-08-17

2.2 久效磷胁迫对感染细菌后的中国对虾血淋巴溶菌活力的影响

肌肉注射感染致病性弧菌后,对虾血淋巴溶菌活力明显降低(见表1第7组),与王雷等1995年报道的对虾注射弧菌后其血淋巴的溶菌活力迅速降低的结果基本一致。感染细菌的同时经18 μg/L久效磷胁迫,其溶菌活力的降低幅度明显大于第4、7两组,表明久效磷胁迫对感染细菌后的中国对虾体内溶菌活力的降低作用更强(见表1)。

表1 久效磷胁迫及感染细菌的中国对虾血淋巴溶菌活力(单位/m l)

组别	细菌感染量 (μl/尾)	药物浓度 (μg/L)	溶菌活力	
			24 h	96 h
4	0.0	18.0	0.419	0.286
6	20.0	18.0	0.214	0.155
7	20.0	0.0	0.303	0.280
对照	0.0	0.0	0.433	0.423

2.3 久效磷对中国对虾血淋巴细菌含量的影响

正常对虾血淋巴中含有一定量的细菌(异养菌),但未检出弧菌。经18 μg/L久效磷胁迫(第4组),对虾血淋巴中的细菌总量较对照组高近2个数量级,但仍未检出弧菌。对虾感染致病性弧菌同时经18 μg/L久效磷胁迫(第6组),其血淋巴的总菌数、弧菌数均较只感染组(第7组)的显著增多,特别是在胁迫96 h后的作用更明显,见表2。

在检测对虾血淋巴细菌含量的同时,对胁迫组(第4组)和对照组养虾水体的菌量也进行了检测(结果见表2),表明久效磷具有一定的抑菌作用,也表明对虾体内菌量的增多与水体菌量变化无明显关系。

3 讨论

3.1 久效磷降低对虾体内溶菌活力的原因

本研究结果表明,久效磷胁迫可降低对虾血淋巴的溶菌活力,其原因可能与久效磷的毒性作用破坏了对虾组织细胞结构^[6],使其合成酶类的功能受损有关。但有报道戊烷可改变溶菌酶结构、抑制酶活性^[1],久效磷是否也具有相同作用需进一步研究。

3.2 久效磷对中国对虾抗感染能力的影响

对虾没有特异性免疫球蛋白,它的防御反应主要

靠酚氧化酶和溶菌酶等非特异性免疫因子来完成^[7]。溶菌酶可溶解细菌细胞壁,在机体抵御细菌侵害的免疫反应中发挥着重要作用^[1],其活力降低后,侵入机体的细菌不能被及时清除并可在体内大量繁殖,本文久效磷胁迫组对虾血淋巴细菌含量明显增多的结果可能与此有关。另外,对虾体内细菌含量的增加也与久效磷使对虾体内酚氧化酶活力降低^[2],机体识别、清除侵入体内的细菌等异物的能力降低有关。

表2 对虾血淋巴及水体细菌含量(个/m l)

检测项目	组别	细菌总数		弧菌数	
		24 h	96 h	24 h	96 h
血淋巴液	4	1.27×10 ³	2.28×10 ⁴	0.00	0.00
	6	6.67×10 ⁴	4.08×10 ⁵	4.44×10 ²	3.00×10 ⁴
	7	1.32×10 ⁴	3.16×10 ⁴	2.50×10 ²	1.60×10 ³
	对照	6.10×10 ²	4.00×10 ²	0.00	0.00
水体	4	1.08×10 ⁶	2.75×10 ⁵	1.00×10 ³	6.70×10 ³
	对照	2.21×10 ⁶	9.25×10 ⁶	1.50×10 ³	9.67×10 ³

3.3 久效磷胁迫是对虾细菌性疾病暴发的可能诱因

虾病的发生是病原体、环境因素和虾体自身防御功能三者综合作用的结果,恶劣的环境影响可使其抵抗力下降,有利于有害生物在其体内繁殖,自然容易引起疾病的发生^[8]。作者的研究结果表明,久效磷胁迫使对虾血淋巴溶菌活力降低、细菌含量增多,而且对感染细菌后的对虾作用更明显,说明久效磷与致病因子协同作用后果将更为严重。因此认为,久效磷胁迫是对虾细菌性疾病暴发的可能诱因。

参考文献

- [日]相ノ尺孝亮等著,黄文涛等译.酶应用手册.上海:上海科学技术出版社,1989.390~407
- 白洁等.海洋科学,1998,3:35~36
- 国家海洋局.海洋监测规范.北京:海洋出版社,1991.702~707
- 周永欣等.水生生物毒性试验方法.北京:农业出版社,1991.15~30
- 王雷等.海洋与湖沼,1995,26(2):179~185
- 汝少国等.水产学报,1996,20(1):1~5
- 李光友.海洋科学,1995,4:1~3
- 薛清刚等.海洋科学,1995,1:20~22
- Hultmark, D. et al. Eur. J. Biochem., 1980, 106: 7~16