

文章编号:1000-0615(2009)01-0112-07

白斑综合征病毒卵黄抗体对凡纳滨对虾免疫 相关酶活力和抗病毒能力的影响

韦嵩^{1,2}, 宋晓玲¹, 李海兵^{1,2}, 李赞²

(1. 中国水产科学研究院黄海水产研究所, 山东 青岛 266071;

2. 中国海洋大学生命科学与技术学部, 山东 青岛 266003)

摘要:免疫活性物质可以调动或激活虾类自身的免疫系统,提高动物的免疫机能,增强动物的抗病毒能力。实验通过连续投喂的方法,用3个水平(1%、0.5%、0.1%)的Ig-Guard(shrimp)制成的试验饲料,同时以基础饲料为空白对照饲喂凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*) 20 d,分别测定了第5、10、15、20天血淋巴的酚氧化酶(PO)、溶菌酶(U_L)、酸性磷酸酶(ACP)及肌肉匀浆液的超氧化物歧化酶(SOD)等非特异性免疫因子活性,并对血清及肌肉匀浆液中蛋白进行定量。结果表明,免疫组的PO、U_L、ACP、SOD活力均显著高于对照组($P < 0.05$)。免疫20 d后,用白斑综合征病毒(WSSV)投喂感染。攻毒后第7天各免疫组的相对免疫保护率分别为17.95%、23.08%、35.90%。实验结果说明,Ig-Guard(shrimp)能有效提高对虾免疫因子的活性,对于提高抗WSSV感染能力也有一定作用。将对虾免疫因子活性和累计死亡率协同分析,摄食低浓度Ig-Guard(shrimp)组较之高浓度组的酶活力高,其累计死亡率低,建议适当地投喂低浓度Ig-Guard(shrimp)更为合理。

关键词:凡纳滨对虾;白斑综合征病毒卵黄抗体;免疫

中图分类号:S 942.5

文献标识码:A

病害问题一直是制约对虾养殖业健康发展的一个重要因素。大量抗生素及其它违禁药物的使用导致的细菌抗药性问题、药物残留问题等已引起了人们的广泛关注与焦虑。目前国内外治疗虾病普遍采用的方法是“以防为主”,其根本目的是提高对虾自身免疫能力。接种疫苗是水产养殖中预防疾病的有效措施,但是虾用疫苗研究进展缓慢,除了对虾弧菌疫苗以外几乎没有成功报道^[1-3]。适当地使用免疫增强剂,如多糖、中草药、某些维生素等可以提高机体的细胞和体液免疫,增强抗病能力^[4-6]。然而,有些学者在研究中却发现,如果长期使用免疫增强剂,处理组的免疫指标与对照组相比会表现出先上升然后下降的“免疫疲劳”现象^[7]。有关卵黄抗体对对虾体内酶活力及抗病毒能力的影响,国内外均未见报道。

本试验将WSSV卵黄抗体添加于对虾饲料

中,通过测定凡纳滨对虾血淋巴和肌肉匀浆液中一些非特异性免疫因子活力,及对WSSV攻毒后的保护力等指标,研究该卵黄抗体对凡纳滨对虾免疫功能及抗病毒能力的作用,以期对卵黄抗体对对虾养殖抗病中的应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验对虾

健康凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*) 800尾,体长(8.70 ± 0.78) cm,于2006年9月购自青岛市崂山区沙子口东海湾对虾养殖场,置于充氧并装有新鲜海水的塑料袋带回,经核酸探针斑点杂交检测,确认WSSV阴性。试验前暂养7 d。

1.2 试验饲料

免疫制剂 WSSV卵黄抗体 [Ig-Guard (shrimp)] 由AD生物技术公司(ADBIOTECH

收稿日期:2008-01-26

修回日期:2008-06-05

资助项目:国家“八六三”高技术研究发展计划(2006AA100313);国家“九七三”计划(2006CB101806)

通讯作者:宋晓玲, Tel: 0532-85823062, E-mail: songxl@ysfri.ac.cn

Co., Ltd. Korea) 提供。

基础饲料 花生粉 250 g/kg, 豆粉 250 g/kg, 虾粉 100 g/kg, 面粉 30 g/kg, 玉米粉 30 g/kg, 鱼粉 300 g/kg, 复合维生素 10 g/kg, 维生素 C 2 g/kg, $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ g/kg, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ g/kg, 褐藻酸钠 10 g/kg, 植物油 20 g/kg。

1.3 感染用 WSSV 病料

投喂感染用 WSSV 病料, 选用实验室 $-80\text{ }^\circ\text{C}$ 保存的经核酸探针斑点杂交检测确认已感染 WSSV 的对虾, 称取鳃和步足充分剪碎并混匀成泥状, 用作感染毒种。

1.4 试验分组

试验对虾稳定后, 随机分为 4 组, 养殖于 550 L 玻璃钢水槽内, 每组 150 尾。用添加了 Ig-Guard (shrimp) 的免疫饲料投喂试验对虾, 对照组投喂相应的对照饲料。试验分组如下: A、B、C 组为试验组, 在整个试验过程中投喂免疫饲料, A 组在基础饲料中添加 1% Ig-Guard (shrimp), B 组在基础饲料中添加 0.5% Ig-Guard (shrimp), C 组在基础饲料中添加 0.1% Ig-Guard (shrimp), D 组为空白对照组, 即在整个试验过程中投喂基础饲料。

1.5 日常管理

每日换水 1 次, 日换水量为 1/3; 每日投喂饲料 4 次, 日投饵量为每 500 尾 60 ~ 85 g, 投喂 1 h 后吸去剩余饲料, 并根据残饵的多少调节投饵量; 水温 $24\text{ }^\circ\text{C}$ ~ $26\text{ }^\circ\text{C}$, 连续充气。

1.6 对虾免疫指标测定

样品的采集 试验开始后的第 5、10、15、20 天, 分别从每组试验对虾中随机取对虾 10 ~ 15 ind, 用一次性注射器 (1 mL) 从对虾的围心腔内抽取血淋巴, 注入无菌的 1.5 mL 离心管中, $4\text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱中过夜, 次日用无菌针头划破血凝块, 析出血清用于免疫指标的测定。

在冰浴条件下, 用小剪刀和镊子取出对虾肌肉, 称重, 加入预冷的 ($4\text{ }^\circ\text{C}$) 约 50 倍体积 (V/M) 的 50 mmol/L Tris-HCl 缓冲液 (pH 8.2), 进行超声波冰浴匀浆 (工作时间 3 s, 间歇时间 8 s, 工作次数 30 次), 然后将匀浆液离心, 10 000 r/min, $4\text{ }^\circ\text{C}$ 离心 30 min, 取上清液, 得到肌肉匀浆液, 用于免疫指标的测定。

酚氧化酶 (PO) 活力 采用雷质文等^[8] 改

进 Ashida 的方法进行测定。

溶菌 (U_L) 活力 以溶壁微球菌 (*Micrococcus lysolei*) 冻干粉 (南京建成生物工程研究所生产) 为底物。

酸性磷酸酶 (ACP) 活力 按酸性磷酸酶测定试剂盒 (南京建成生物工程研究所生产) 要求进行测定。

超氧化物歧化酶 (SOD) 活力 用超氧化物歧化酶测定试剂盒测定 (南京建成生物工程研究所生产)。

蛋白含量测定 蛋白含量的测定采用 Bradford 法进行。结果以 mg/mL 计算。

1.7 WSSV 感染试验

免疫试验 20 d 后, 进行攻毒试验, 每组 40 尾。攻毒试验前一天停食, 次日上午进行感染试验, 取 $-80\text{ }^\circ\text{C}$ 保存的毒种, 称取鳃和步足剪碎用作感染毒种, 投喂对虾, 1 h 后吸去残饵, 每日继续投喂相应的免疫饲料或基础饲料, 7 d 后结束试验。试验期间日常管理同免疫试验, 及时检出死亡对虾, 记录死亡时间和死亡数, 并计算累积死亡率 (cumulative mortality ratio) 和相对免疫保护率 (relative percent survival, RPS): $\text{RPS} = (1 - \text{免疫组死亡率} / \text{对照组死亡率}) \times 100\%$ 。并用镊子摘取死虾鳃丝 0.5 ~ 1 g, 放到预先已加入 SEMP 采样液的 1.5 mL 离心管中, $4\text{ }^\circ\text{C}$ 保存用于病毒检测。

1.8 病毒的检测

按斑点杂交检测试剂盒 (本实验室史成银等发明) 要求进行测定: $4\text{ }^\circ\text{C}$ 保存的对虾鳃丝研磨碎后离心; 上清煮沸变性后点样于经过处理的硝酸纤维素膜上, $80\text{ }^\circ\text{C}$ 交联 2 h 后, 于预杂交液中 $65\text{ }^\circ\text{C}$ 孵育 2 h, 加入 WSSV 探针, $65\text{ }^\circ\text{C}$ 孵育 12 ~ 16 h; 分别用 $2 \times \text{SSC} / 0.1\% \text{ SDS}$, $0.1 \times \text{SSC} / 0.1\% \text{ SDS}$ 洗去未结合的探针 (本实验室设计); 硝酸纤维素膜在碱性磷酸酶标记的 DIG 抗体缓冲液中振荡 30 min; 以 NBT/BCIP 为底物显色。

1.9 统计分析

本试验采用 SPSS 11.5 软件对试验数据进行单因素方差分析 (One-way ANOVA)。若有显著差异, 再做 LSD 多重比较。显著水平采用 0.05, 若 $P < 0.05$, 则表示有显著差异。

2 结果与分析

2.1 WSSV 卵黄抗体对酚氧化酶 (PO) 的影响

5 d 时 A 组血清 PO 活力与 D 组无显著差异 ($P > 0.05$, 图 1), B、C 两组与 D 组均有显著差异 ($P < 0.05$), A、B、C 三组之间无显著差异 ($P > 0.05$)。10 d 时 A、B、C 三组与 D 组均有显著差异 ($P < 0.05$), 其中 C 组的上升幅度很大, 是对照组 D 组的 1.8 倍, A 组与 B 组无显著差异 ($P > 0.05$), A、B 两组与 C 组均有显著差异 ($P < 0.05$)。15 d 时 A、B、C 三组相对于对照组 D 组来说, 在数值上均出现回落, 其中 A、B 两组与 D 组无显著差异 ($P > 0.05$), C 组与 D 组有显著差异 ($P < 0.05$), A、B、C 三组之间均无显著差异 ($P > 0.05$)。到第 20 d 免疫试验结束时, A、B 两组与 D 组无显著差异 ($P > 0.05$), C 组与 D 组有显著差异 ($P < 0.05$), A、B、C 三组之间均无显著差异 ($P > 0.05$)。

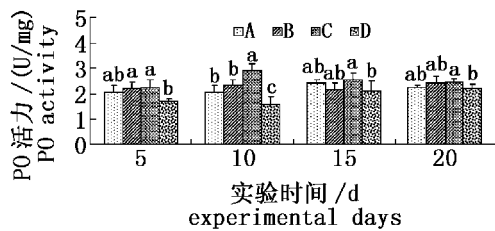


图 1 各试验组凡纳滨对虾血清酚氧化酶活力

图中误差线用标准误差表示, 不含有相同字母的组之间差异显著 ($P < 0.05$), 含有相同字母的组之间无显著差异。(A) Ig-Guard (shrimp) 浓度为 1% 的免疫组; (B) Ig-Guard (shrimp) 浓度为 0.5% 的免疫组; (C) Ig-Guard (shrimp) 浓度为 0.1% 的免疫组; (D) 未添加 Ig-Guard (shrimp) 组, 为空白对照组

Fig. 1 Serum phenoloxidase (PO) activity of

Litopenaeus vannamei in test groups

Error bars represent standard deviation (SD); significant difference lies between the groups which have no same letter and does not between the groups which have the same letter. (A) Immune group with an addition of 1% Ig-Guard (shrimp); (B) Immune group with an addition of 0.5% Ig-Guard (shrimp); (C) Immune group with an addition of 0.1% Ig-Guard (shrimp); (D) Normal diet with no Ig-Guard (shrimp), blank control group

2.2 WSSV 卵黄抗体对溶菌 (U_L) 活力的影响

5 d 时 A 组血清溶菌活力与 D 组有显著差异 ($P < 0.05$, 图 2), B、C 两组与 D 组均无显著差异 ($P > 0.05$), A、C 两组与 B 组均无显著差异 ($P > 0.05$), A 组与 C 组有显著差异 ($P < 0.05$)。10 d 时 A、B、C 三组与 D 组均有显著差异 ($P < 0.05$),

A、B、C 三组上升均很显著, B 组尤为明显, 是 D 组的 1.4 倍, A、C 两组与 B 组均有显著差异 ($P < 0.05$), A 组与 C 组无显著差异 ($P > 0.05$)。15 d 时 A、B、C 三组与 D 组均有显著差异 ($P < 0.05$), 其中 C 组是 D 组的 1.4 倍, A、C 两组与 B 组均无显著差异 ($P > 0.05$), A 组与 C 组有显著差异 ($P < 0.05$)。到第 20 天免疫试验结束时, B 组与 D 组有显著差异 ($P < 0.05$), A、C 两组与 D 组均无显著差异 ($P > 0.05$), A 组与 B 组有显著差异 ($P < 0.05$), A、B 两组与 C 组均无显著差异 ($P > 0.05$)。

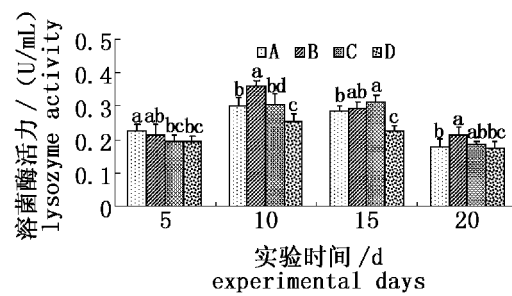


图 2 各试验组凡纳滨对虾血清溶菌活力

图中误差线用标准误差表示, 不含有相同字母的组之间差异显著 ($P < 0.05$), 含有相同字母的组之间无显著差异。(A) Ig-Guard (shrimp) 浓度为 1% 的免疫组; (B) Ig-Guard (shrimp) 浓度为 0.5% 的免疫组; (C) Ig-Guard (shrimp) 浓度为 0.1% 的免疫组; (D) 未添加 Ig-Guard (shrimp) 组, 为空白对照组

Fig. 2 Serum lysozyme (U_L) activity of

Litopenaeus vannamei in test groups

Error bars represent standard deviation (SD); significant difference lies between the groups which have no same letter and does not between the groups which have the same letter. (A) Immune group with an addition of 1% Ig-Guard (shrimp); (B) Immune group with an addition of 0.5% Ig-Guard (shrimp); (C) Immune group with an addition of 0.1% Ig-Guard (shrimp); (D) Normal diet with no Ig-Guard (shrimp), blank control group

2.3 WSSV 卵黄抗体对酸性磷酸酶 (ACP) 活力的影响

5 d 时 A、B 两组血清 ACP 活力与 D 组均无显著差异 ($P > 0.05$, 图 3), C 组与 D 组有极显著差异 ($P < 0.01$), A、C 两组与 B 组均无显著差异 ($P > 0.05$), A 组与 C 组有显著差异 ($P < 0.05$)。10 d 时 A 组与 D 组有显著差异 ($P < 0.05$), B、C 两组与 D 组均有显著差异 ($P < 0.05$), A 组、B 组、C 组分别是 D 组的 1.2 倍、1.3 和 1.6 倍, A 组与 B 组有显著差异 ($P < 0.05$), A、B 两组与 C 组均有显著差异 ($P < 0.05$)。15 d

时 A、C 两组与 D 组均有显著差异 ($P < 0.05$), B 组与 D 组无显著差异 ($P > 0.05$), A、B、C 三组之间均有显著差异 ($P < 0.05$)。到第 20 天免疫试验结束时, A 组与 D 组无显著差异 ($P > 0.05$), B、C 两组与 D 组均有显著差异 ($P < 0.05$), A 组与 B 组无显著差异 ($P > 0.05$), A、B 两组与 C 组均有显著差异 ($P < 0.05$)。

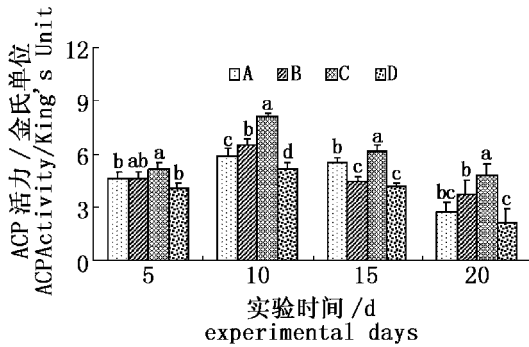


图 3 各试验组凡纳滨对虾血清酸性磷酸酶活力

图中误差线用标准误差表示,不含有相同字母的组之间差异显著 ($P < 0.05$),含有相同字母的组之间无显著差异。(A) Ig-Guard (shrimp) 浓度为 1% 的免疫组; (B) Ig-Guard (shrimp) 浓度为 0.5% 的免疫组; (C) Ig-Guard (shrimp) 浓度为 0.1% 的免疫组; (D) 未添加 Ig-Guard (shrimp) 组,为空白对照组

Fig. 3 Serum acid phosphatase (ACP) activity of *Litopenaeus vannamei* in test groups

Error bars represent standard deviation (SD); significant difference lies between the groups which have no same letter and does not between the groups which have the same letter. (A) Immune group with an addition of 1% Ig-Guard (shrimp); (B) Immune group with an addition of 0.5% Ig-Guard (shrimp); (C) Immune group with an addition of 0.1% Ig-Guard (shrimp); (D) Normal diet with no Ig-Guard (shrimp), blank control group

2.4 WSSV 卵黄抗体对超氧化物歧化酶 (SOD) 活力的影响

5 d 时 A、B、C 肌肉匀浆液 SOD 活力三组与 D 组无显著差异 ($P > 0.05$, 图 4), A、B、C 三组之间也均无显著差异 ($P > 0.05$)。10 d 时 A 组与 D 组无显著差异 ($P > 0.05$), B、C 两组与 D 组均有显著差异 ($P < 0.05$), A 组与 B、C 两组均有显著差异 ($P < 0.05$), B 组与 C 组无显著差异 ($P > 0.05$)。

15 d 时 A 组与 D 组无显著差异 ($P > 0.05$), B、C 两组与 D 组均有显著差异 ($P < 0.05$), A、B、C 三组之间均无显著差异 ($P > 0.05$)。到第 20 天免疫试验结束时, A、B、C 三组与 D 组无显著差异 ($P > 0.05$), A、B、C 三组之间也均无显著差异 ($P > 0.05$)。

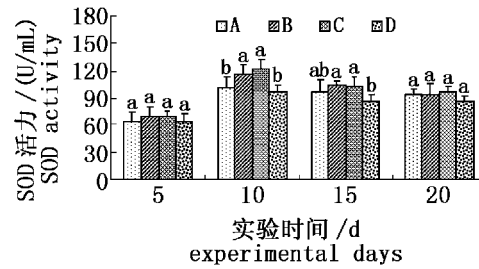


图 4 各试验组凡纳滨对虾肌肉匀浆液超氧化物歧化酶活力

图中误差线用标准误差表示,不含有相同字母的组之间差异显著 ($P < 0.05$),含有相同字母的组之间无显著差异。(A) Ig-Guard (shrimp) 浓度为 1% 的免疫组; (B) Ig-Guard (shrimp) 浓度为 0.5% 的免疫组; (C) Ig-Guard (shrimp) 浓度为 0.1% 的免疫组; (D) 未添加 Ig-Guard (shrimp) 组,为空白对照组

Fig. 4 Muscle superoxide dismutase (SOD) activity of *Litopenaeus vannamei* in test groups

Error bars represent standard deviation (SD); significant difference lies between the groups which have no same letter and does not between the groups which have the same letter. (A) Immune group with an addition of 1% Ig-Guard (shrimp); (B) Immune group with an addition of 0.5% Ig-Guard (shrimp); (C) Immune group with an addition of 0.1% Ig-Guard (shrimp); (D) Normal diet with no Ig-Guard (shrimp), blank control group

2.5 感染试验结果

攻毒试验结果(图 5)显示,感染 WSSV 后 7 d, D 组的累积死亡率为 97.5%, 高于三个免疫组,而 C 组累积死亡率最低,为 62.5%, A 组和 B 组累计死亡率分别为 80.0% 和 75.0%。Ig-Guard (shrimp) 对凡纳滨对虾抗 WSSV 感染的免疫保护率分别为 17.95%、23.08%、35.90%。

2.6 感染对虾 WSSV 检测结果

感染试验期间死亡对虾的杂交结果大部分为很强的阳性,而感染试验结束时的存活对虾的杂交结果除了个别样品外,一般为较弱的阳性(图 6)。

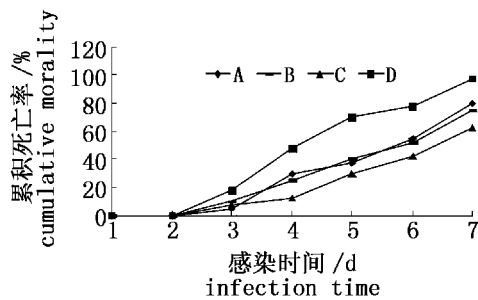


图5 WSSV 攻毒后凡纳滨对虾的累积死亡率
(A) Ig-Guard (shrimp) 浓度为 1% 的免疫组; (B) Ig-Guard (shrimp) 浓度为 0.5% 的免疫组; (C) Ig-Guard (shrimp) 浓度为 0.1% 的免疫组; (D) 未添加 Ig-Guard (shrimp) 组, 为空白对照组

Fig. 5 Cumulative mortality of *Litopenaeus vannamei* after being challenged with WSSV

(A) Immune group with an addition of 1% Ig-Guard (shrimp); (B) Immune group with an addition of 0.5% Ig-Guard (shrimp); (C) Immune group with an addition of 0.1% Ig-Guard (shrimp); (D) Normal diet with no Ig-Guard (shrimp), blank control group

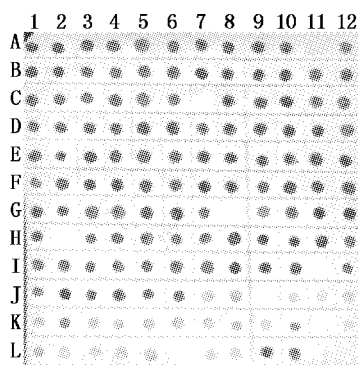


图6 斑点杂交法检测凡纳滨对虾的感染状况
L9~L10 为阳性对照, L11~L12 为阴性对照; A1~C5 为 A 组死亡对虾样品, C6~E8 为 B 组死亡对虾样品, E9~G7 为 C 组死亡对虾样品, G8~J6 为 D 组死亡对虾样品, J7~L8 为存活对虾样品

Fig. 6 Detecting WSSV of *Litopenaeus vannamei* by dot-blot hybridization

L9-L10 is positive control and L11-L12 is negative control; A1-C5 are the dead shrimps sampling from the "A" group; C6-E8 are the dead shrimps sampling from the "B" group; E9-G7 are the dead shrimps sampling from the "C" group; G8-J6 are the dead shrimps sampling from the "D" group; J7-L8 are the survival shrimp

3 讨论

应用免疫增强剂提高对虾非特异免疫力, 增强抗病力, 目前正是水产养殖动物病害防控研究的热点问题, 各种衡量免疫增强剂效果的手段及指标也在进行着各种探索, 一般通过选择一些酶

学指标, 看其在免疫增强剂作用下的提高程度, 我们的研究结果证明, 对虾通过口服添加 Ig-Guard (shrimp) 的饵料后, 各非特异性免疫相关因子酶活力的变化并没有表现出一致性, 低浓度免疫组较高浓度免疫组对酶活力的促进作用明显, 这说明了在饲料中添加免疫增强剂, 应考虑一个最佳浓度。

凡纳滨对虾摄食添加不同浓度 Ig-Guard (shrimp) 的免疫饲料后, 其血清 PO 活力均出现不同程度的上升, 且在试验初期酶活力增加, 然后逐渐减小, 至免疫试验结束时, 两个较高浓度组最终减至与对照组相同水平, 而 0.1% 浓度组略高于对照组, 但与对照也基本相当。由此可见, Ig-Guard (shrimp) 对凡纳滨对虾的 PO 活力具有诱导作用, 能在一定程度上提高对虾的免疫功能, 这表明 Ig-Guard (shrimp) 能作为一种免疫刺激物刺激对虾的酚氧化酶原系统。但是对于 Ig-Guard (shrimp) 是如何影响凡纳滨对虾酚氧化酶原系统的, 其作用机制尚未明了, 而且 PO 活力在受到不同的持续免疫刺激后体现出有规律的变化, 这种规律性值得我们深入研究。王秀华等^[9-10]发现适量的肽聚糖能提高凡纳滨对虾和日本对虾的溶菌和活力。本试验中, 凡纳滨对虾摄食含有不同浓度的 Ig-Guard (shrimp) 饲料后, 均能不同程度的提高其血清溶菌活力, 于 10~15 d 时出现最大值, 而后逐渐降低, 至免疫试验结束时, 0.5% 浓度组略高于对照组, 其余两个浓度组最终减至与对照组基本相同。

通过免疫增强剂提高对虾对各种疾病, 特别是 WSSV 的抗感染能力, 一度成为研究的热点。Chang 等^[7]用获自裂褶菌的 β -1, 3-葡聚糖饲喂斑节对虾仔虾和幼虾, 结果发现 β -1, 3-葡聚糖能提高对虾对 WSSV 的抗感染力。谭北平等^[11]在饵料中添加来源于啤酒酵母的 β -葡聚糖饲喂凡纳滨对虾 60 d 后, 通过注射 WSSV 进行对虾攻毒试验, 结果在攻毒的 14 d 内, 对照组的累积死亡率显著高于 β -葡聚糖试验组, 3 个 β -葡聚糖试验组的免疫保护率为 75%~80%。宋晓玲等^[12]开发研制的肽聚糖免疫增强剂经口服和浸浴两种方式均能够增强日本对虾仔虾抗 WSSV 感染力, 口服肽聚糖制剂可提高凡纳滨对虾幼虾和成虾抗 WSSV 感染力。本试验中, Ig-Guard (shrimp) 也起到了一定的提高对虾机体

WSSV 的抗感染能力,在一定程度上能够改变病毒的发病历程,其死亡率呈缓慢上升趋势,同期累计死亡率较对照组要低,并延迟死亡高峰时间的出现。

试验中一些酶活力在受到免疫促进后有相同的变化规律性,即达到最大值后就开始减小。这表明,Ig-Guard (shrimp) 对对虾的酶活力有促进作用,但无法持续,原因可能是对虾的自身保护机制。酶活力在受刺激的初期会迅速增加,这是由于 Ig-Guard (shrimp) 激活了体内的酶系统,酶活力增加。但当酶活力迅速增加后,出于对自身的保护,对虾机体启动了自身的反馈抑制系统,使酶活力在达到一定值之后不再继续上升或保持,反而有所降低。这既保护了虾体自身,同时对于以后的免疫预防也起一种储备作用,以免消耗过大,待病原侵入时反而没有足够的保护来抵御病害,是一种生物自身的反馈机制。

参考文献:

- [1] Alabi A O, Latchford J W, Jones D A. Demonstration of residual antibacterial activity in plasma of vaccinated *Penaeus vannamei* [J]. *Aquaculture*, 2000, 187: 15-34.
- [2] 陶保华, 胡超群, 任春华. 海水鱼类病原弧菌对对虾的致病力及其疫苗的免疫预防[J]. *热带海洋学报*, 2001, 20 (4): 68-73.
- [3] 曹剑香, 简纪常, 吴灶和. 注射溶藻弧菌疫苗对南美白对虾免疫功能的影响[J]. *水产科学*, 2006, 25 (7): 330-333.
- [4] Campa-Cordva A I, Hernandez-Saavedra N Y, Philippis R De, et al. Generation of superoxide anion and SOD activity in haemocytes and muscle of American white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) as a response to glucan and sulphated polysaccharide[J]. *Fish & Shellfish immunology*, 2002, 12: 353-366.
- [5] Cheng F C, Mao S S, Houng Y C, et al. Dietary β -1, 3-glucan effectively improves immunity and survival of *Penaeus monodon* challenged with white spot syndrome virus [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2003, 13 (15): 297-310.
- [6] 王宜艳, 孙虎山, 李光友. 复合免疫药物对中国对虾血淋巴氧化酶和抗氧化酶活力的影响[J]. *海洋科学进展*, 2002, 20 (3): 79-83.
- [7] Chang F C, Chen H Y, Su M S. Immunomodulation by dietary β -1, 3-glucan in the brooders of the black tiger shrimp *Penaeus monodon* [J]. *Fish & Shellfish Immunol*, 2000, 10: 505-514.
- [8] 雷质文, 黄 健, 杨 冰, 等. 感染白斑综合征病毒(WSSV)对虾相关免疫因子的研究[J]. *中国水产科学*, 2001, 8 (4): 46-51.
- [9] 王秀华, 宋晓玲. 肽聚糖制剂对南美白对虾体液免疫因子的影响[J]. *中国水产科学*, 2004, 11 (1): 26-30.
- [10] 王秀华, 宋晓玲. 肽聚糖制剂对日本对虾非特异性免疫因子的作用[J]. *高技术通讯*, 2004, 14 (5): 78-81.
- [11] 谭北平, 周歧存, 郑石轩, 等. β -1, 3/1, 6-葡聚糖制剂对凡纳对虾生长及免疫力的影响[J]. *高技术通讯*, 2004, 14 (5): 73-77.
- [12] 宋晓玲, 王秀华, 陈国福. 肽聚糖制剂提高凡纳对虾抗白斑综合征病毒感染力的研究[J]. *高技术通讯*, 2005, 15 (1): 74-78.

Effects of Ig-Guard (shrimp) on immunity-related enzyme activities and WSSV resistance of *Litopenaeus vannamei*

WEI Song^{1,2}, SONG Xiao-ling¹, LI Hai-bing^{1,2}, LI Yun²

(1. Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071, China;

2. Faculty of Life Science and Technology, Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

Abstract: Immunoreactive substances can stimulate the immune system of shrimps, and enhance the immunocompetence of animal. The influence of egg yolk immunoglobulin on the immunity-related enzyme activities and WSSV resistance of shrimps has not been reported. In this research, we fed basic diets containing three levels (1%, 0.5%, 0.1%) (M/M) of Ig-Guard (shrimp) to *Litopenaeus vannamei* continuously for 20 days, and the basic diets as blank control. Then phenoloxidase (PO), acid phosphatase (ACP) and lysozyme (U_L) activities of the serum and superoxide dismutase (SOD) activity of the muscle, and protein concentration of the serum and the muscle were detected on days 5, 10, 15 and 20. All the immune parameters of the test groups measured were higher ($P < 0.05$) than the control group. After 20 days, we fed white spot syndrome virus (WSSV) to shrimps, and recorded the mortalities of challenging test in seven days. The relative percent survival (RPS) value of the test groups was 17.95%, 23.08%, 35.90%. This experiment indicates that Ig-Guard (shrimp) can effectively enhance the shrimps' immunity-related enzyme activities, and it can also promote shrimps' WSSV resistance. Based on the results of immunity-related enzyme activities and cumulative mortality, the enzyme activities of the lower concentration group was higher than those of the higher concentration group, and its cumulative mortality was lower, so this paper suggests that to feed the lower concentration Ig-Guard (shrimp) properly is reasonable.

Key words: *Litopenaeus vannamei*; Ig-Guard (shrimp); immunity