

海豚链球菌感染对不同品系罗非鱼血液生化指标和肝脏 HSP70 mRNA 表达的影响

强俊^{1,2}, 杨弘^{1,2}, 王辉³, 徐跑^{1,2*}, 柴壮林¹, 何杰²

(1. 南京农业大学无锡渔业学院, 江苏 无锡 214081;

2. 中国水产科学研究院淡水渔业研究中心农业部淡水渔业和种质资源利用重点实验室, 江苏 无锡 214081;

3. 广东海洋大学水产学院, 广东 湛江 524025)

摘要:以吉富罗非鱼、新吉富罗非鱼、埃及尼罗罗非鱼和红罗非鱼为研究对象, 饲养 100 d 后, 进行海豚链球菌(2.95×10^8 CFU/mL)感染试验, 分析攻毒前后各品系罗非鱼的血液生化指标和肝脏 HSP70 mRNA 表达量的变化规律。另从各桶中取 20 尾鱼进行同样的攻毒试验, 统计攻毒后各时间点的累积死亡率。结果表明, 感染海豚链球菌 96 h 后, 吉富罗非鱼和新吉富罗非鱼对病原较为敏感, 累积死亡率分别达到 36.67%和 38.33%; 埃及尼罗罗非鱼对病原敏感性较差, 试验期间未见死亡。吉富罗非鱼、新吉富罗非鱼和红罗非鱼血清皮质醇和葡萄糖水平以及肝脏 HSP70 mRNA 的表达量在攻毒后明显提高, 血清谷丙转氨酶、谷草转氨酶与溶菌酶活力也呈上升趋势, 碱性磷酸酶活力与甘油三酯和胆固醇水平低于攻毒前。埃及尼罗罗非鱼可以利用糖原和脂类产生的能量, 提高了 HSPs 与一些特定免疫蛋白(溶菌酶、球蛋白等)的合成, 增强了鱼体的非特异性免疫力。罗非鱼选育过程中, 需要将抗病力与生长性能进行有效的结合, 在注重生长速度的同时也要增强其抗应激能力, 从而为罗非鱼产业的可持续发展提供保证。

关键词: 罗非鱼; 海豚链球菌; 血液生化指标; HSP70 mRNA 表达

中图分类号: S 917

文献标志码: A

罗非鱼是我国南方地区主要养殖的一种淡水温水性经济鱼类, 以广东、广西、海南为多, 其唯美味肉嫩、营养丰富、无骨间刺、养殖周期短, 拥有极高的市场价值, 养殖前景非常广阔。随着罗非鱼苗种繁殖和成鱼养殖技术日益成熟, 养殖规模与产量不断提高。目前, 我国罗非鱼产量已达 120 万 t。

然而, 随着罗非鱼养殖业的快速发展, 罗非鱼病害频发, 导致罗非鱼成鱼大量死亡, 给罗非鱼养殖业造成重大经济损失。当前较为流行的是由海豚链球菌(*Streptococcus iniae*)^[1-2]和无乳链球菌

(*S.agalactiae*)^[3-4]引起的细菌性疾病。自 1976 年首次发现海豚链球菌以来^[5], 近十年海豚链球菌已成为水产养殖中的主要水生病原体之一, 给暖水性地区的海水和淡水渔业生产造成重大损失^[6]。目前, 在虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)^[7]、条纹鲈(*Moront saxatus*)^[8]、牙鲆(*Paralichthys olivaceus*)^[9]、澳洲肺鱼(*Neocer atodus forsteri*)^[10]、红拟石首鱼(*Sctaeonops ocellata*)^[11]等病鱼体内也提取出海豚链球菌。2010 年我国因链球菌引发罗非鱼致死的损失达到数十亿元。尽管采取了许多防病措施, 仍无法从根本上解决罗非鱼养殖中的病害问题。同时,

收稿日期: 2011-12-16

修回日期: 2012-02-23

资助项目: 公益性行业(农业)科研专项(200903046-02); 现代农业产业技术体系建设专项资金“罗非鱼产业技术体系”(CARS-49); 江苏省普通高校研究生科研创新计划(CXLX11-0708); 中央公益性科研业务费专项资金(2011jbf09); 广东省海洋渔业科技推广专项[A201009C02, A2010002-010(b)]; 广东省科技计划项目(2010B090500032)

通讯作者: 徐跑, E-mail: xup@ffrc.cn

一些抗生素类药物容易在鱼体残留以及污染环境。随着消费者对食品安全关注度的增加, 培育健康、优质的环境友好性产品成为当前研究的重点。罗非鱼养殖品系较多, 不同品系间抗逆性与抗病力差异较大。本研究采用目前较为常见的几种罗非鱼品系: “吉富”罗非鱼、“新吉富”罗非鱼、埃及尼罗罗非鱼和红罗非鱼, 开展了不同品系罗非鱼对海豚链球菌的敏感性分析, 测定感染时间对罗非鱼血清中非特异性免疫指标与肝脏 HSP70 mRNA 表达量的影响, 旨在为罗非鱼健康养殖提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验鱼

“吉富”罗非鱼 2006 年淡水渔业研究中心从马来西亚世界渔业中心引进的最新“吉富”第 16 代罗非鱼的 60 个家系, 近几年采取群体选育的方法进行保种与亲本配对, 繁殖后代主要用于商品鱼养殖。取自淡水渔业研究中心宜兴试验基地。

“新吉富”罗非鱼 1994 年, 由上海海洋大学从菲律宾引进, 从 1996 年起, 采取家系选育方法, 经过连续 9 代选育而成, 繁殖后代主要用于商品鱼养殖。购自广州五龙岗水产公司。

埃及尼罗罗非鱼 1999 年由淡水渔业研究中心从埃及农业和农垦部水产研究中心实验室引进, 亲本繁育后代主要用于亲本配种。取自淡水渔业研究中心南泉试验基地。

红罗非鱼 尼罗罗非鱼(♀)和莫桑比克罗非鱼(♂)杂交的突变种, 2010 年由淡水渔业研究中心从马来西亚引种。后代主要用于亲本配种与商品鱼养殖。取自淡水渔业研究中心宜兴试验基地。

1.2 试验鱼的饲养与测定

2011 年 6 月 9 日将大小基本一致的 4 种罗非鱼称体重后转入密闭式循环养殖系统, 放置于 12 个 1.2 m³ 的养殖桶中, 加入 1 m³ 曝气 3 d 后的自来水。每个养殖桶各放苗 80 尾, 每个品系同时设置 3 组重复, 每日投喂 3 次(7:00、12:00 和 17:00), 日投喂量为鱼体总质量的 5%~12%, 养殖周期为 100 d。养殖条件: 水温(29±0.3) °C, pH (7.5±0.2), 溶氧在 5.0 mg/L 以上, 氨氮和亚硝酸盐分别不高于 0.003 mg/L 和 0.004 mg/L, 自然光周期, 每天换水 1/3。

1.3 不同品系罗非鱼对海豚链球菌敏感性的测定

养殖试验结束后, 于 2011 年 9 月 22 日进行海豚链球菌感染试验, 选取规格基本一致的罗非鱼用于试验, 体质量为(51.81±2.01) g。

细菌的培养与鉴定 试验用海豚链球菌取自本试验室保存的海豚链球菌菌株。用脑心浸液培养基 28 °C 恒温振荡培养箱中培养 24 h, 进行菌株的复壮。用灭菌后的生理盐水(0.85%)清洗、集菌, 以 4 000 r/min 离心 15 min, 收集沉淀细菌体。然后用 0.85%生理盐水以 10 为倍数稀释, 比浊法粗略估算, 试验前先进行预试验确定攻毒浓度。正式试验所注射的菌液采用稀释平板计数法准确计算浓度。细菌注射前以及感染过程中死鱼体内分离出的菌株均使用法国生物梅里埃公司 API 鉴定系统 Strep 试剂条进行快速鉴定。

感染试验 攻毒试验: 饲养试验结束后, 每个养殖桶取 20 尾鱼, 分别放养于室内 12 个 150 L 水族箱中暂养 7 d, 保证溶氧充足, 温度控制在 30~31 °C。然后按每 50 g 鱼体腹腔注射菌液 0.3 mL, 暂养与感染期间每天正常投喂。观察各组鱼的死亡情况, 分别于 0、6、12、24、48、96 h 统计死亡率。同时, 4 个品系各取 10 尾鱼, 每尾注射 0.3 mL 的灭菌生理盐水用于对照。

攻毒试验: 另从每个养殖桶中取 30 尾鱼, 置于 250 L 水族箱中暂养 7 d 后人工感染, 也按每 50 g 鱼体腹腔注射菌液 0.3 mL, 饲养管理同上, 用于分析不同时间血清生化指标的变化规律。试验期间除投喂饲料外, 尽量减少人为干扰。同时, 每个品系各取 30 尾鱼, 每尾注射 0.3 mL 的灭菌生理盐水用于对照。

1.4 采样与分析

攻毒试验 中, 鱼体感染后, 于 0(攻毒前)、6、12、24、48 和 96 h 每个水族箱分别取鱼 3 尾, 对照组同步取样。快速深度麻醉后, 尾静脉采血, 血样于 4 °C 冰箱中静置 2 h, 在 4 °C, 3 500 g 离心 10 min 制备血清, 上清液移置-80 °C 冰箱中保存备用, 并取 0.1 g 左右的肝脏用液氮速冻后, 于-80 °C 保存, 用于分子生物学分析。

1.5 测定指标与方法

血液生化指标的测定 皮质醇采用电化学发光法, 使用罗氏电化学发光免疫分析仪 E170 测定, 试剂盒购自北京北方生物技术研究所; 总蛋

白、白蛋白、球蛋白、葡萄糖、甘油三脂、胆固醇、谷丙转氨酶、谷草转氨酶和碱性磷酸酶在罗氏全自动生化分析仪上测定,试剂盒均购自上海骏实生物科技有限公司;溶菌酶活力的测定采用南京建成生物科技有限公司生产的试剂盒。

肝脏 HSP70 mRNA 表达量的测定 根据 GenBank 中罗非鱼 HSP70 序列(FJ207463.1),设计 HSP70 引物, F1: CATCGCCTACGG TCTGGAC- AA, R1: TGCCGTCTTCAATGGTCAGGAT。用罗非鱼的管家基因 β -actin(EU887951.1)作为内参,设计 β -actin 引物, F1: CCACACAGTGCCCATCTA-CGA, R1: CCACGCTCTGTCAGGATCTTCA。所有引物由上海基康生物技术有限公司合成,扩增的片段为 100~110 bp,取罗非鱼肝脏 20 mg 左右,参照 RNeasy Mini Handbook(QIAGEN 公司)说明书用试剂盒提取总 RNA, OD₂₆₀/OD₂₈₀ 为 1.90 左右。

根据 PrimeScript RT reagent Kit Perfect Real Time(TaKaRa)进行 RT 反应,然后采用 ABI 7900 HT Fast Real-Time PCR System 的 SYBR Green 渗入法进行实时定量 PCR 扩增反应,以 β -actin 为内参。PCR 反应体系(50 μ L)包括:高压灭菌去离子水 19 μ L、SYBR Green PCR Master Mix(2 \times)25 μ L、正向及反向引物(10 μ mol/L)各 2 μ L、cDNA 工作液 4 μ L。反应条件为 95 $^{\circ}$ C 5 min,然后 40 个循环(95 $^{\circ}$ C 15 s, 60 $^{\circ}$ C 60 s, 读板记录荧光量),反应结束后制备溶解曲线,反应条件为 95 $^{\circ}$ C 15 s, 60 $^{\circ}$ C 15 s, 95 $^{\circ}$ C 15 s。每个反应设 3 复孔。所有检测样品均包含 1 个无模板的阴性对照以排除假阳性结果。

1.6 数据处理

在 HSP 70 与 β -actin 的定量 PCR 扩增效率基本一致的前提下,计算 HSP70 mRNA 表达量。以罗非鱼 β -actin 为内参,对得到的各样品 C_T 值进行均一化处理,以各对照组 0 h 时 HSP70 mRNA 的表达量为基准,应用 2^{- $\Delta\Delta$ C_T} 法^[12]确定不同时间点各处理组 mRNA 的相对表达量。所有的数据结果均用平均值 \pm 标准差(mean \pm SD)表示,采用 SPSS 15.0 统计软件进行方差分析及 Duncan 氏多重比较检验各品系罗非鱼之间以及不同感染时间的生化指标差异。

2 结果与分析

2.1 海豚链球菌感染对不同品系罗非鱼累积死亡率的影响

试验中,不同品系罗非鱼的对照组在 96 h 内

未见死亡。罗非鱼人工感染后,不同程度的表现出海豚链球菌引起的典型症状,如:皮肤溃疡、背鳍基部充血、单边眼球外突浑浊、尾鳍破损、尾部与肛门肿大等,解剖后发现腹腔内有积水,肝脾肿大等。吉富罗非鱼与新吉富罗非鱼较早出现上述症状,埃及尼罗 96 h 内未发现类似症状。取感染后死亡的罗非鱼进行细菌学检验,均检验并分离到大量与供试菌株菌落形态高度一致的细菌,理化特性表明为原感染菌。

由图 1 可见,人工感染后,各品系罗非鱼在 6 h 内未发现死亡。12 h 时,吉富罗非鱼与新吉富罗非鱼出现死亡,随着感染时间的增加,死亡率逐渐上升,96 h 时,两试验组之间累积死亡率分别达到 36.67%和 38.33%,差异不显著(P>0.05)。红罗非鱼累积死亡率略低,只有 16.67%,埃及尼罗对病原不敏感,96 h 内未见死亡。

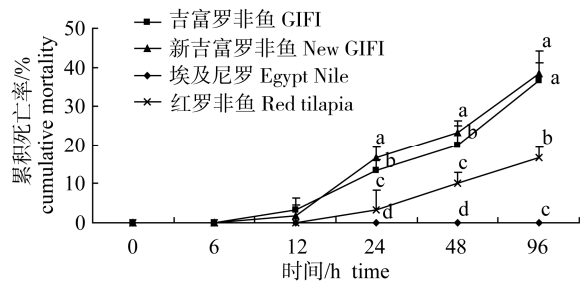


图 1 不同品系罗非鱼在人工感染海豚链球菌后的累积死亡率(n=20)

Fig. 1 Cumulative mortality of four different strains tilapia infected with *S. iniae*

2.2 海豚链球菌感染对不同品系罗非鱼血清皮质醇和葡萄糖水平的影响

由图 2-a 可知,吉富罗非鱼、新吉富罗非鱼与埃及尼罗经感染海豚链球菌后血清皮质醇水平在 96 h 内呈先上升后下降再上升的变化,96 h 时,3 个处理组血清皮质醇水平仍显著高于攻毒前(P<0.05)。红罗非鱼在感染 6 h 后,皮质醇水平迅速上升,随着感染时间延长,出现略微波动,但都显著高于攻毒前的 432.933 ng/mL。

吉富罗非鱼与新吉富罗非鱼血清葡萄糖水平也呈先上升后下降再上升的变化(图 2-b)。12 h 和 96 h 时,葡萄糖水平都显著高于攻毒前(P<0.05)。埃及尼罗在 12 h 时,血清葡萄糖水平显著上升(P<0.05),而后随感染时间的延长,迅速下降,24、48 和 96 h 时,各组之间的变化无显著差异(P>0.05),

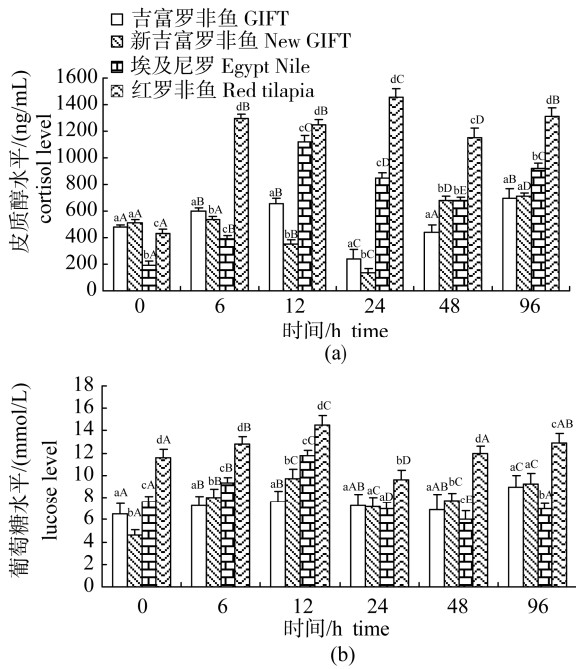


图 2 不同品系罗非鱼在人工感染海豚链球菌后血清皮质醇(a)与葡萄糖(b)的变化

不同大写字母表示同一品系在不同时间点差异显著($P < 0.05$); 不同小写字母表示不同品系在同一时间点差异显著($P < 0.05$), 下同。

Fig. 2 The change of serum cortisol (a) and glucose (b) levels of four different strains tilapia infected with *S. iniae*

Different capital letters above the bars indicates significant differences at different time points of the same strain ($P < 0.05$); and different small letters above the bars indicates significant differences at the same time point of different strains. The same as below.

但都略低于 0 h 的 7.603 mmol/L。红罗非鱼的葡萄糖变化趋势与吉富罗非鱼相同, 但在各时间点血清葡萄糖水平都显著高于其它 3 个品系($P < 0.05$)。

2.3 海豚链球菌感染对不同品系罗非鱼血清总蛋白、白蛋白和球蛋白水平的影响

感染后, 各试验组血清总蛋白水平均呈先下降后上升的变化, 6 和 12 h 时, 各处理组总蛋白水平明显低于攻毒前, 96 h 时, 吉富罗非鱼、新吉富罗非鱼和埃及尼罗血清总蛋白水平与攻毒前相比无显著差异($P > 0.05$); 红罗非鱼血清总蛋白水平为 30.733 g/L, 显著高于 0 h 的 27.267 g/L。

攻毒前, 不同品系罗非鱼之间血清白蛋白水平无显著差异($P > 0.05$), 6 和 12 h 时出现短暂下降, 随后恢复到攻毒前水平。96 h 时, 除新吉富罗非鱼的白蛋白水平低于攻毒前外, 其它品系罗非鱼与攻毒前相比无显著差异($P > 0.05$)。

各处理组血清球蛋白的水平基本呈先下降后上升的变化, 6 和 12 h 时, 各试验组球蛋白水平低于 0 h 的, 24 h 后开始上升。96 h 时, 吉富罗非鱼与新吉富罗非鱼血清球蛋白的水平与 0 h 相比无显著差异($P > 0.05$); 而埃及尼罗与红罗非鱼血清球蛋白水平显著上升($P < 0.05$)。

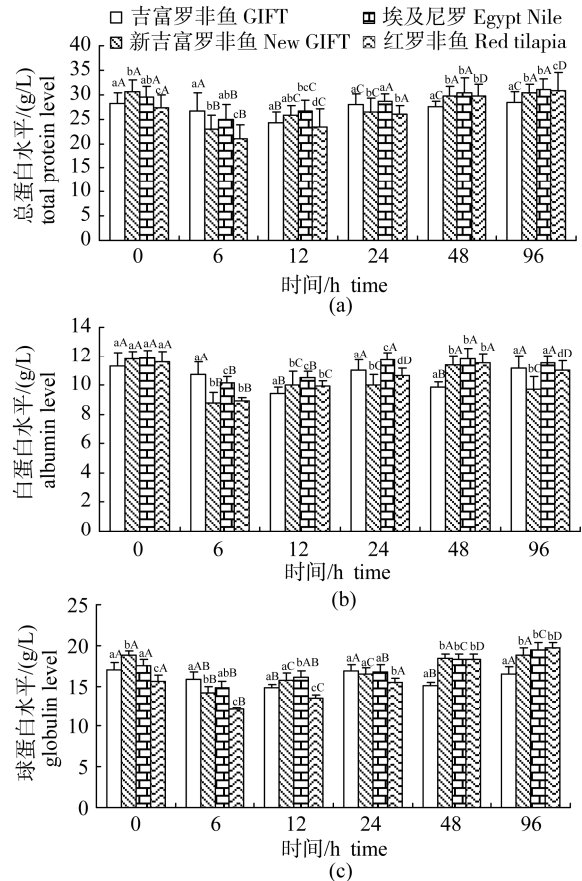


图 3 不同品系罗非鱼在人工感染海豚链球菌后血清总蛋白(a)、白蛋白(b)与球蛋白(c)的变化

Fig. 3 The change of serum total protein(a), albumin(b) and globulin(c) levels of four different strains tilapia infected with *S. iniae*

吉富罗非鱼与新吉富罗非鱼血清中白蛋白/球蛋白比值在 96 h 内无显著变化(表 1)。埃及尼罗与红罗非鱼随感染时间的延长, 白蛋白/球蛋白比值基本呈下降趋势, 96 h 时, 其比值显著低于攻毒前的 0.677 与 0.743($P < 0.05$)。

2.4 海豚链球菌感染对不同品系罗非鱼谷丙转氨酶和谷草转氨酶活力的影响

感染后, 吉富罗非鱼、新吉富罗非鱼和红罗非鱼血清谷丙转氨酶活力在 96 h 内呈上升趋势, 96 h

表 1 人工感染海豚链球菌后不同品系罗非鱼在 96 h 内白蛋白/球蛋白比值的变化

Tab. 1 The change of albumin/globulin ratio of four different strains tilapia infected with *S. iniae* during 96 h

品系 strains	白蛋白/球蛋白 albumin/globulin					
	0 h	6 h	12 h	24 h	48 h	96 h
吉富 GIFT	0.670 ^{abA}	0.673 ^{abA}	0.643 ^{abA}	0.650 ^{abA}	0.657 ^{abA}	0.677 ^{abA}
新吉富 New GIFT	0.627 ^{abA}	0.620 ^{abA}	0.637 ^{abA}	0.607 ^{abA}	0.620 ^{abA}	0.615 ^{abA}
埃及尼罗 Egypt Nile	0.677 ^{abAB}	0.683 ^{abAB}	0.660 ^{abAB}	0.700 ^{abA}	0.637 ^{abB}	0.593 ^{bcC}
红罗非鱼 Red tilapia	0.743 ^{baA}	0.733 ^{caA}	0.733 ^{baA}	0.693 ^{baA}	0.633 ^{acC}	0.560 ^{cdD}

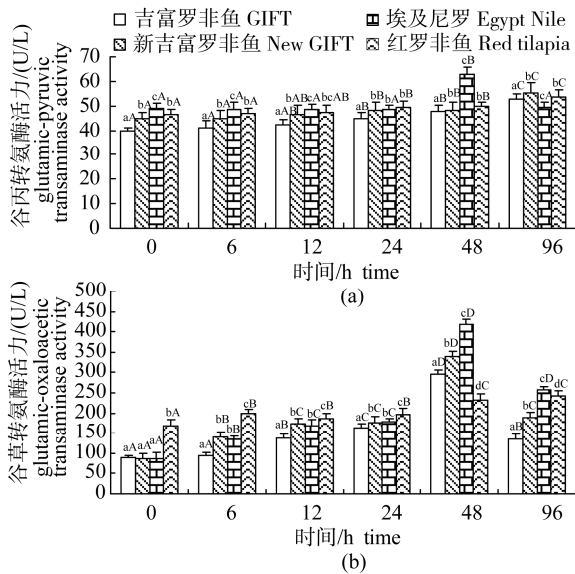


图 4 不同品系罗非鱼在人工感染海豚链球菌后血清谷丙转氨酶(a)与谷草转氨酶(b)的变化

Fig. 4 The change of serum glutamic-pyruvic transaminase (a) and glutamic-oxaloacetic transaminase (b) activities of four different strains tilapia infected with *S. iniae*

时, 各处理组均显著高于攻毒前水平; 埃及尼罗血清谷丙转氨酶活力除 48 h 显著升高外, 其它各组与攻毒前无显著差异($P>0.05$)。

攻毒前, 吉富罗非鱼、新吉富罗非鱼和埃及尼罗血清中谷草转氨酶活力无显著差异($P>0.05$), 而红罗非鱼的谷草转氨酶活力显著高于其它各品系($P<0.05$)。感染后, 吉富罗非鱼、新吉富罗非鱼与埃及尼罗的酶活力呈先上升后下降的变化, 48 h 时, 3 个处理组都显著高于攻毒前的水平, 96 h 时, 显著下降, 但仍显著高于攻毒前水平($P<0.05$)。红罗非鱼在人工感染 96 h 内, 血清谷草转氨酶活力基本呈上升趋势。

2.5 海豚链球菌感染对不同品系罗非鱼血清溶菌酶和碱性磷酸酶活力的影响

感染后, 各处理组血清溶菌酶活力均呈先上升后下降的变化, 48 h 时, 各组值均较高, 随后吉富罗非鱼、新吉富罗非鱼和红罗非鱼血清溶菌酶活力呈下降趋势, 96 h 时, 各组值仍显著高于攻毒前水平($P<0.05$)。埃及尼罗血清溶菌酶活力显著高于其它品系($P<0.05$)。

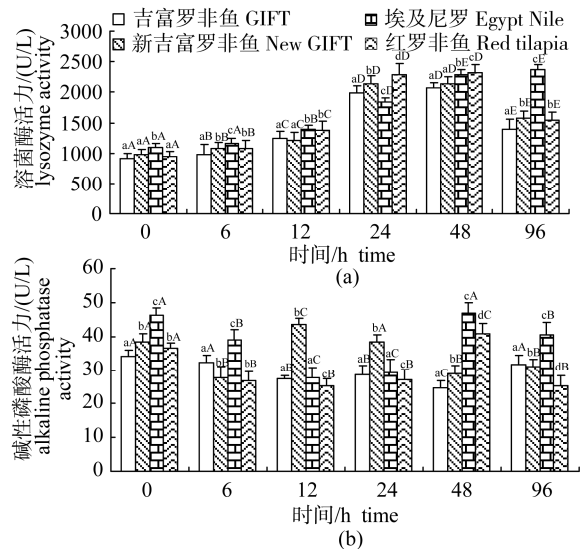


图 5 不同品系罗非鱼在人工感染海豚链球菌后血清溶菌酶(a)与碱性磷酸酶(b)的变化

Fig. 5 The change of serum lysozyme (a) and alkaline phosphatase (b) activities of four different strains tilapia infected with *S. iniae*

埃及尼罗血清中碱性磷酸酶活力在攻毒前显著高于其它各品系($P<0.05$)。攻毒后, 各品系罗非鱼的变化较为复杂, 但基本呈下降趋势。96 h 时, 各试验组血清中碱性磷酸酶活力显著低于攻毒前($P<0.05$)。

2.6 海豚链球菌感染对不同品系罗非鱼血清甘油三酯和胆固醇水平的的影响

吉富罗非鱼、新吉富罗非鱼和埃及尼罗血清甘油三酯水平在感染后基本呈下降趋势, 96 h 时, 3 个试验组罗非鱼的甘油三酯水平均显著低于攻毒前 ($P<0.05$)。红罗非鱼在 24 h 和 48 h 时, 血清甘油三酯水平在下降后略微上升, 96 h 时又显著下降 ($P<0.05$)。

各处理组胆固醇水平均呈先下降后上升再下降的变化, 96 h 时, 各处理组胆固醇水平均显著低于攻毒前 ($P<0.05$)。

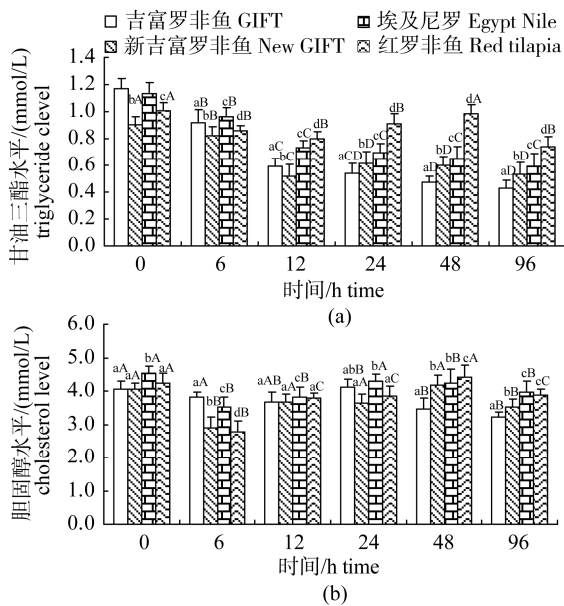


图 6 不同品系罗非鱼在人工感染海豚链球菌后血清甘油三酯(a)与胆固醇(b)的变化

Fig. 6 The change of serum triglyceride (a) and cholesterol (b) levels of four different strains tilapia infected with *S. iniae*

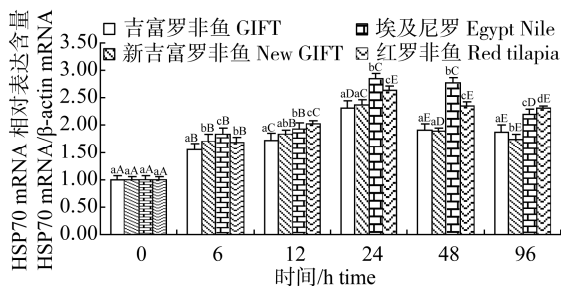


图 7 不同品系罗非鱼在人工感染海豚链球菌后肝脏 HSP70 mRNA 表达量的变化

Fig. 7 The change on relative expression of levels of hepatic HSP70 mRNA of four different strains tilapia infected with *S. iniae*

2.7 海豚链球菌感染对不同品系罗非鱼肝脏 HSP70 mRNA 表达的影响

人工感染后, 4 种罗非鱼肝脏 HSP70 mRNA 表达量都显著上升 ($P<0.05$)。吉富罗非鱼和新吉富罗非鱼肝脏 HSP70 mRNA 在感染后 24 h 时, 表达量较高, 48 h 时开始下降, 96 和 48 h 相比无显著差异 ($P>0.05$)。埃及尼罗和红罗非鱼在 24 h 后, HSP70 mRNA 表达量变化较为平缓, 48 和 24 h 时无显著差异 ($P>0.05$), 而 96 h 时出现显著差异下降 ($P<0.05$)。

3 讨论

3.1 海豚链球菌感染对不同品系罗非鱼累积死亡率的影响

链球菌是一种广泛分布自然界的革兰氏阳性菌^[13], 其中, 海豚链球菌作为重要的病原菌, 对罗非鱼产业化发展造成极大的危害。养殖密度过大、水质条件恶化等引发鱼体应激反应会增加罗非鱼链球菌病的发生^[14]。同时, 水温越高, 疾病爆发越严重。罗非鱼发病水温范围在 26~34 °C^[15]。目前, 在广东、海南和广西, 罗非鱼链球菌病流行高峰为 6—9 月, 水温在 30 °C 以上。本试验中, 感染期间的水温设置在 30~31 °C, 可以促进罗非鱼致病。本试验采用浓度为 2.95×10^8 /mL 的海豚链球菌进行感染, 吉富罗非鱼、新吉富罗非鱼与红罗非鱼在 96 h 内表现出典型的致病症状。96 h 后, 吉富罗非鱼与新吉富罗非鱼累积死亡率达到 36.67%和 38.33%, 显著高于红罗非鱼的 16.67%和埃及尼罗的 0%。

3.2 海豚链球菌感染对不同品系罗非鱼血液生化指标的影响

应激反应是机体对外界刺激的一种非特异性防御反应, 主要是交感神经兴奋和垂体—肾上腺皮质分泌增多的一系列神经内分泌反应, 并由此引起机体的各种功能与代谢变化^[16]。随着罗非鱼集约化养殖的提高, 病害爆发越加频繁。本研究针对这个问题, 采用人工感染海豚链球菌来分析感染后罗非鱼血液生化指标的变化, 并对不同品系之间的差异进行了比较。血液生化指标对环境应激的敏感性较低, 在血液中保持相对平衡^[17]。因此, 在试验中, 检测动物体内血液生化指标的变化具有重要作用, 可以对动物的生理状态进行很好的分析与预测^[18]。

水生生物体内, 细菌的扩增过程通常为 0~24 h

为缓慢扩增期, 24~48 h 为指数增长期, 48 h 后为平台期^[19]。皮质醇是一种与许多生物活性相关联的类固醇激素。鱼类面对应激胁迫时, 血清皮质醇水平会明显提高^[20]。本试验中, 在海豚链球菌的感染下, 随着感染时间的延长, 血清皮质醇水平呈先上升后下降再上升的变化。24 h 时, 吉富罗非鱼与新吉富罗非鱼血清皮质醇水平低于攻毒前, 这与 Ackerman 等^[21]的研究结论相似。可能是因为机体自身的非特异性免疫功能增强, 暂时缓解了攻毒应激, 增强了其抗病原菌抵抗能力。同时, 本试验中发现, 攻毒后, 埃及尼罗与红罗非鱼血清皮质醇水平始终显著高于攻毒前。皮质醇水平短暂的升高有助于鱼体应对胁迫, 随着感染时间的增加, 机体的免疫功能会衰弱, 因此, 红罗非鱼在感染 24 h 后出现死亡。而埃及尼罗可能在短期内对病原较不敏感, 因而没有出现发病症状。皮质醇水平的增加对于糖异生与糖原分解起促进作用^[20]。吉富罗非鱼和新吉富罗非鱼在感染海豚链球菌后血清葡萄糖水平呈上升趋势, 较高的葡萄糖水平有助于增加鱼体对于应激过程中的能量需求。Chen 等^[22]研究也发现, 使用创伤弧菌(*Vibrio vulnificus*)和海豚链球菌感染尼罗罗非鱼时, 18 h 后, 血清葡萄糖水平分别为 82.7 mg/dL 和 80.3 mg/dL, 显著高于对照组的 68.1 mg/dL。Benli 等^[23]用迟钝爱德华菌(*Edwardsiella tarda*)感染尼罗罗非鱼, 3 d 后, 病鱼血清葡萄糖水平(243.07 mg/L)显著高于对照组的(21.87 mg/dL)。但也有感染其它病原菌后, 血糖水平呈下降趋势的^[24-25]。而埃及尼罗与红罗非鱼除 24 h 显著升高外, 96 h 时又恢复至攻毒前水平, 这可能与其对此病原菌抗应激性较强有关。

鱼类应对外界应激时, 血清总蛋白、白蛋白与球蛋白水平可以作为重要考察指标^[25]。血清总蛋白反映鱼体的营养和代谢状况。白蛋白在鱼体内起到营养细胞和维持血液渗透压的作用。当白蛋白减少时, 血液渗透压降低, 体内会出现积水。球蛋白是机体免疫器官制造的, 当机体存在病毒等抗原时, 机体的免疫功能会增强, 血液中球蛋白浓度会升高^[26]。本试验中发现, 各品系罗非鱼在感染后, 血清总蛋白水平都出现了短暂下降。Chen 等^[22]用 9.4×10^7 /mL 的海豚链球菌感染尼罗罗非鱼时, 血清总蛋白水平在 18 h 后显著下降。Benli 等^[23]也发现感染迟钝爱德华菌的尼罗罗非鱼血清总蛋白呈下降

趋势。徐晓津等^[27]用哈维氏弧菌(*Vibrio harveyi*)感染大黄鱼(*Pseudosciaena crocea*)后, 其血清总蛋白和球蛋白在攻毒 3 d 后显著下降。Yildiz^[28]用拮抗细菌(*Burkholderia gladioli*)感染鲤(*Cyprinus carpio*)时也发现类似的结论。可能是因为, 鱼体感染病原菌后, 随着感染时间的增加, 病原菌在鱼体内不断扩增, 鱼体通过大量分泌皮质醇来促进血清中糖原合成, 利用蛋白质与脂肪的降解来提供能量, 增加机体的免疫力^[29], 从而应对病原菌的胁迫。96 h 时, 吉富罗非鱼与新吉富罗非鱼血清总蛋白水平与攻毒前无显著差异, 而埃及尼罗和红罗非鱼总蛋白水平略微上升。Shoemaker 等^[30]研究发现, 密度为 22.4 g/L 时, 尼罗罗非鱼分别感染 2.9×10^7 , 5.4×10^7 和 1.2×10^8 /mL 海豚链球菌菌液时, 28 d 后, 死亡率分别为 15.6%、26.6%和 34.6%。本试验中, 考察时间较短, 只有 96 h, 可能不足以引起尼罗罗非鱼血液中蛋白水平的较大波动。

血清白蛋白水平和白蛋白/球蛋白比值可以衡量机体正常的蛋白质维持程度^[31]。本试验中, 新吉富罗非鱼白蛋白水平在 96 h 时显著下降, 病鱼体内出现了积水现象, 但其白蛋白/球蛋白比值与攻毒前相比无显著差异。而埃及尼罗和红罗非鱼因为球蛋白水平的上升, 比值低于攻毒前的。推测可能是因为, 红罗非鱼与埃及尼罗对病原敏感性较差, 当病原菌在鱼体内增殖时, 肝细胞可以提高蛋白质的合成, 血清中总蛋白与球蛋白浓度的增加对于鱼体抵抗病原菌的入侵有重要的保护作用。钟正苹等^[32]和刘金等^[33]也研究发现, 病鱼体内血清总蛋白、白蛋白与球蛋白的下降与消耗有关, 大量蛋白质用来修复病鱼溃烂的伤口。

谷丙转氨酶和谷草转氨酶活力可以作为肝脏损伤的指示物^[33]。这两种酶主要分布于肝脏、心肌等组织中, 正常生理代谢条件下, 这些酶在血清中相对恒定且水平较低。但当应激引起肝脏受损时, 动物组织细胞膜通透性加大, 组织内的谷丙转氨酶和谷草转氨酶的活性下降, 而血清中酶活将上升^[34]。Racicot 等^[35]研究报道, 气单胞菌(*Aeromonas*)感染虹鳟后, 血清谷丙转氨酶和谷草转氨酶活力呈上升趋势。郭松林等^[25]研究发现, 用嗜水气单胞菌感染美洲鳗鲡(*Anguilla rostrata*)后, 血清谷丙转氨酶和谷草转氨酶活力在 6 h 时与对照组无显著差异; 30 h 时, 这两种酶出现显著上升。Chen 等^[22]报道,

感染海豚链球菌 18 h 后,尼罗罗非鱼血清谷丙转氨酶和谷草转氨酶活力分别为 83.4 U/L 和 185.6 U/L,显著高于对照组的 38.8 U/L 和 94.3 U/L。本试验中发现,吉富罗非鱼与新吉富罗非鱼血清中谷丙转氨酶活力在 96 h 内,随着感染时间的增加而呈不断上升的趋势;而谷草转氨酶在 48 h 时,达到峰值,96 h 时明显下降,但仍显著高于攻毒前水平。可能是因为,病原菌的增殖,破坏鱼类血清酸碱平衡和血清离子的衡态,影响鱼体内环境的稳定^[34]。感染 48 h 时,发病罗非鱼的肝脾出现肿大,细胞膜通透性增加或细胞坏死,谷丙转氨酶和谷草转氨酶分别大量进入血清,从而提高了血清中酶的活力。感染 96 h 时,吉富罗非鱼和新吉富罗非鱼血清中葡萄糖、总蛋白与球蛋白水平仍保持在较高水平,鱼体通过自身的保护和修复功能极力维持组织细胞膜的完整性,可能在短期内减少谷草转氨酶的溢出。埃及尼罗由于自身对病原敏感性较差,感染 96 h 时,谷丙转氨酶活力与攻毒前相比无显著差异,谷草转氨酶活力也显著低于 48 h 时的。红罗非鱼血清中谷丙转氨酶和谷草转氨酶活力呈缓慢上升趋势。可能是因为,鱼体能承受一定范围的胁迫影响,因而不足以引起酶活的较大波动。

短期应激下血清皮质醇水平升高有利于鱼体应对胁迫,但持续升高则会抑制机体的免疫功能。鱼体皮肤黏液、血液以及某些组织中富含溶菌酶,溶菌酶可以催化细菌细胞壁中 N-乙酰胞壁酸和 N-乙酰肽聚糖葡糖胺的水解,降低细菌的毒性^[36]。溶菌酶作为水生动物血淋巴细胞酶系统中的重要组成部分,反映了机体非特异性免疫水平的变化。鱼体受到急性应激时,肝脏受损,血清中溶菌酶会显著上升^[37]。本试验中,鱼体血清溶菌酶的活性在攻毒 24 h 和 48 h 时显著升高。溶菌酶具有溶菌效应,主要针对革兰氏阳性菌发挥作用。试验中攻毒所用的海豚链球菌属于革兰氏阳性菌。糖原的合成、脂肪与蛋白质的分解促使鱼体在急性应激下获得更多的能量用于增加血清中一些特定免疫蛋白如溶菌酶或补体 C₃、C₄ 等的水平,从而提高机体的免疫力^[38]。然而,随着应激时间的延长,溶菌酶活力开始降低,机体免疫力下降,进而引起一些相关免疫指标发生改变,鱼体开始出现大量死亡。这与孙峰等^[39]用嗜水气单胞菌分别感染团头鲂和鲫(*Carassius auratus*)后,血清溶菌酶活力的变化相

似。而埃及尼罗血清溶菌酶活力在 96 h 时仍保持在较高水平,因此未出现死亡。

碱性磷酸酶(AKP)属于代谢调控酶,与磷酸基团转移和钙磷代谢有关,通过改变病原体的表面结构来提高鱼体对于病原体的识别和吞噬能力,有助于增强鱼体的抗病力。本试验中,攻毒 96 h 时,血清中碱性磷酸酶活力显著下降。可能是因为,随着病原体的增殖,引起鱼体免疫功能与代谢发生改变,海豚链球菌抑制了该酶的活性。钟正苹等^[32]也发现,患病的大鳍鲮(*Mystus macropterus*)血清中碱性磷酸酶水平低于健康鱼。

甘油三酯和胆固醇水平的变化与鱼类对于细菌感染后的抗应激能力有关。血清中甘油三酯与胆固醇主要来源于肠道对于脂类的吸收以及肝脏脂肪的代谢。徐晓津等^[27]研究发现,大黄鱼感染哈维氏弧菌(*Vibrio harveyi*)后,血清甘油三酯和胆固醇的水平与对照组相比显著下降。这与本试验结论相似,罗非鱼在感染海豚链球菌后,血清甘油三酯水平随时间延长呈下降趋势,而胆固醇在感染中期出现了微波波动,96 h 时略低于攻毒前水平。可能与罗非鱼在感染病原菌后,增加了对甘油三酯和胆固醇的利用,提供更多能量用来满足抗应激的需求。然而,随着感染时间的增加,病原菌的增值对鱼体的摄食和肝功能造成了一定的损害,可能会引起血清中甘油三酯和胆固醇的下降。然而也有些病鱼对于甘油三酯和胆固醇利用方面存在差异。陈寅儿等^[40]报道,感染病原菌后的团头鲂与鲈(*Lateolabrax japonicus*)血清中甘油三酯显著低于健康鱼,而胆固醇的变化不大。

3.3 海豚链球菌感染对不同品系罗非鱼 HSP70 mRNA 表达的影响

热休克蛋白(HSPs)在鱼类中的调控作用受自身的遗传特性和环境条件共同影响^[41]。HSPs 在鱼类应对环境应激时发挥着重要作用。鱼体面对应激时可以合成一些高度保守的 HSPs。Ackerman 等^[21]发现,虹鳟感染鳃弧菌后,随着病原菌的扩增,肝脏和肾脏中的 HSP70 mRNA 表达量显著上升。其中,当血清中皮质醇的水平达到最高值时,肝脏中 HSP70 mRNA 的表达量也有峰值;而肾脏中在 24 h 时出现峰值。银大马哈鱼(*Oncorhynchus kisutch*)在人工感染沙门氏杆菌(*Salmonella enterica*)后,肝脏与肾脏中的 HSP70 的水平呈逐渐上升趋势^[41]。在应

激情况下, 鱼体各器官在感染时会发生损伤。通常, HSP70 mRNA 表达量的变化可以作为水生生物应对环境胁迫时的重要指标^[42]。本试验中, 攻毒后, 4种罗非鱼肝脏 HSP70 mRNA 的表达量均呈先上升后下降的变化。感染 6 h 后出现显著增加, 24 h 时达到峰值, 48 h 时, 吉富罗非鱼和新吉富罗非鱼肝脏中的表达量出现显著下降。这和 Song 等^[43]的研究结论相似。Song 等^[43]发现, 海湾扇贝(*Argopecten irradians*)内收肌组织感染鳃弧菌后, HSP70 mRNA 的表达量呈先上升后下降的变化, 感染 8 h 时, mRNA 表达量出现峰值。HSP70 mRNA 表达量的下降可能是因为, HSP70 对细胞的保护作用只能在一定范围内, 如果应激超过一定强度, 或延续时间过久, 引起肝脏细胞膜结构和蛋白质组成的异常, 从而导致 HSP70 在细胞内分布的改变, HSP70 对机体的保护能力也会随之下降, 鱼体感染后的死亡也增加。埃及尼罗与红罗非鱼的肝脏可能拥有较强的保护功能, 在 96 h 时, 肝脏 HSP70 mRNA 表达量才出现显著下降。

参考文献:

- [1] Bowser P R, Wooster G A, Getchell R G, *et al.* *Streptococcus iniae* infection of tilapia *Oreochromis niloticus* in a recirculation production facility[J]. *Journal of the World Aquaculture Society*, 1998, 29 (3): 335-339.
- [2] Perera R, Collins D, Johnson S, *et al.* *Streptococcus iniae* associated with mortality of tilapia *niloticus* and *T. ancea* hybrids[J]. *Journal of Aquatic Animal Health*, 1994, 6(4): 335-340.
- [3] Eldar A, Bejerano Y, Livoff A, *et al.* *Streptococcus shiloi* and *Streptococcus difficile*: two new streptococcal species causing a meningoencephalitis in fish[J]. *Current Microbiology*, 1994, 28: 139-143.
- [4] 张新艳, 樊海平, 钟全福, 等. 罗非鱼无乳链球菌的分离、鉴定及致病性研究[J]. *水产学报*, 2008, 32 (5): 772-779.
- [5] Pier G B, Madin S H. *Streptococcus iniae* sp nov, a beta-hemolytic streptococcus isolated from an Amazon freshwater dolphin *Inia geoffrensis* [J]. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 1976, 26 (4): 545-553.
- [6] Eldar A, Horovitz A, Bercovier H. Development and efficacy of a vaccine against *Streptococcus iniae* infection in farmed rainbow trout[J]. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 1997, 56(1-2): 175-183.
- [7] Colorni A, Diamant A, Eldar A, *et al.* *Streptococcus iniae* infections in Red Sea cage-cultured and wild fishes[J]. *Disease of Aquatic Organisms*, 2002, 49, 165-170.
- [8] Evans J J, Shoemaker C A, Klesius P H. Distribution of *Streptococcus iniae* in hybrid striped bass (*Morone chrysops* × *Morone saxatilis*) following nare inoculation[J]. *Aquaculture*, 2001, 194: 233-243.
- [9] Nguyen H T, Kanai K, Yoshikoshi K. Ecological investigation of *Streptococcus iniae* in cultured Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) using selective isolation procedures[J]. *Aquaculture*, 2002, 205: 7-17.
- [10] Bromage E, Owens L. Environmental factors affecting the susceptibility of barramundi to *Streptococcus iniae* [J]. *Aquaculture*, 2009, 290: 224-228.
- [11] 沈智华, 钱冬, 许文军, 等. 红拟石首鱼海豚链球菌分离、鉴定及致病性研究[J]. *水生生物学报*, 2005, 29(6): 678-686.
- [12] Livak K J, Schmittgen T D. Analysis of relative gene expression data using Real-Time quantitative PCR and the 2^{-C_T} method[J]. *Methods*, 2001, 25(4): 402-408.
- [13] Saka I M, Atsuta S, Kobayash I M. Protective immune response in rainbow trout, *Oncorhynchus mikiss*, vaccinated with β -haemolytic streptococcal bacterin [J]. *Fish Pathology*, 1989, 24(3): 169-173.
- [14] Suanyuk N, Kong F, Ko D, *et al.* Occurrence of rare genotypes of *Streptococcus agalactiae* in cultured red tilapia *Oreochromis* sp. and Nile tilapia *O. niloticus* in Thailand-relationship to human isolates? [J]. *Aquaculture*, 2008, 284 (1/4): 35-40.
- [15] 卢迈新. 罗非鱼链球菌病研究进展[J]. *南方水产*, 2010, 6(1): 75-79.
- [16] Iwama G K, Vijayan M M, Forsyth R B, *et al.* Heat shock proteins and physiological stress in fish [J]. *American Zoologist*, 1999, 39: 901-909.
- [17] Davis K B. Temperature affects physiological stress responses to acute confinement in sunshine bass (*Morone chrysops* × *Morone saxatilis*) [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 2004, 139: 433-440.
- [18] Groff J M, Zinkl J G. Hematology and clinical chemistry of cyprinid fish. Common carp and goldfish[J]. *Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice*, 1999, 2(3): 741-776.
- [19] Tang K F J, Lightner D V. Quantification of white spot syndrome virus DNA through a competitive polymerase chain reaction[J]. *Aquaculture*, 2000, 189(1/2): 11-21.
- [20] Mommsen T P, Vijayan M M, Moon T W. Cortisol in teleosts: Dynamics, mechanisms of action, and metabolic regulation [J]. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 1999, 9: 211-268.
- [21] Ackerman P A, Iwama G K. Physiological and cellular stress responses of juvenile rainbow trout to vibriosis [J]. *Journal of Aquatic Animal Health*, 2001, 13(2): 173-180.
- [22] Chen C Y, Wooster G A, Bowser P R. Comparative

- blood chemistry and histopathology of tilapia infected with *Vibrio vulnificus* or *Streptococcus iniae* or exposed to carbon tetrachloride, gentamicin, or copper sulfate[J]. *Aquaculture*, 2004, 239: 421–443.
- [23] Benli A C K, Yildiz H Y. Blood parameters in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) spontaneously infected with *Edwardsiella tarda*[J]. *Aquaculture Research*, 2004, 35, 1388–1390.
- [24] Barham W T, Smit G L, Schoonbee H J. The hematological assessment of bacterial infection in rainbow trout *Salmo gairdneri*[J]. *Journal of Fish Biology*, 1980, 17: 27–281.
- [25] 郭松林, 关瑞章, 冯建军, 等. 嗜水气单胞菌感染对美洲鳊血液和生化指标的影响[J]. *集美大学学报: 自然科学版*, 2010, 15(3): 93–97.
- [26] Adham K, Khairalla A, Abu-Shabana M. Environmental stress in lake maryut and physiological response of tilapia zilli gerv[J]. *Journal of Environmental Science and Health, Part A: Environmental Science and Engineering and Toxicology*, 1997, 32(9/10): 2585–2598.
- [27] 徐晓津, 徐斌, 王军, 等. 大黄鱼感染哈维氏弧菌后血液生化指标的变化及组织病理学观察[J]. *水产学报*, 2010, 34(4): 618–625.
- [28] Yildiz H Y. Effects of experimental infection with *Pseudomonas fluorescens* on different blood parameters in carp (*Cyprinus carpio* L.) [J]. *Bamidgeh*, 1998, 50: 82–85.
- [29] Vijayan M M, Moon T W. Acute handling stress alters hepatic glycogen metabolism in food-deprived rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 1992, 49: 2260–2266.
- [30] Shoemaker C A, Evans J J, Klesius P H. Density and dose: factors affecting mortality of *Streptococcus iniae* infected tilapia (*Oreochromis niloticus*) [J]. *Aquaculture*, 2000, 188: 229–235.
- [31] Sala-Rabanal M, Sánchez J, Ibarz A. Effects of low temperatures and fasting on hematology and plasma composition of gilthead sea bream (*Sparus aurata*) [J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2003, 29: 105–115.
- [32] 钟正苹, 金丽, 张耀光. 患鳃锥体虫病大鳍鱮的血液和组织学观察[J]. *淡水渔业*, 2009, 39(6): 34–40.
- [33] 刘金, 曾伯平, 颜亨梅, 等. 黄鳝体内寄生虫感染对血液若干生化指标的影响[J]. *湖南师范大学学报: 自然科学版*, 2005, 28(3): 67–69.
- [34] Casillas E, Myers M, Ames W E. Relationship of serum chemistry values to liver and kidney histopathology in English sole (*Parophrys vetulus*) after acute exposure to carbon tetrachloride[J]. *Aquatic Toxicology*, 1983, 3: 61–78.
- [35] Racicot J G, Gaudet M, Leray C. Blood and liver enzymes in rainbow trout (*Salmo gairdneri* Rich) with emphasis on their diagnostic use: study with CCl₄ toxicity and a case of *Aeromonas* infection[J]. *Journal of Fish Biology*, 1975, 7: 825–835.
- [36] Jolles P, Jolles J. What's new in lysozyme research? Always a model system, today as yesterday [J]. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 1984, 63: 165–189.
- [37] Ellis A E. Immunity to bacteria in fish[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 1999, 9: 291–308.
- [38] Möck A, Peters G. Lysozyme activity in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), stressed by handling, transport and water pollution [J]. *Journal of Fish Biology*, 1990, 37(6): 873–885.
- [39] 孙峰, 张煜, 李立德, 等. 感染嗜水气单胞菌对鲫鱼非特异性免疫功能的影响[J]. *中国海洋大学学报: 自然科学版*, 2005, 35(5): 815–818.
- [40] 陈寅儿, 金珊, 王国良. 鲈鱼溶藻弧菌病的血液生理生化指标研究[J]. *台湾海峡*, 2005, 24(1): 104–108.
- [41] kayhan F E, Duman B S. Heat shock protein genes in fish[J]. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 2010, 10: 287–293.
- [42] Forsyth R B, Candido E P M, Babich S L, et al. Stress protein expression in coho salmon with bacterial kidney disease[J]. *Journal of Aquatic Animal Health*, 1997, 9: 18–25.
- [43] Song L S, Wu L T, Ni D J, et al. The cDNA cloning and mRNA expression of heat shock protein 70 gene in the haemocytes of bay scallop (*Argopecten irradians*, Lamarck 1819) responding to bacteria challenge and naphthalin stress[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2006, 21: 335–345.

Studies on blood biochemical indices and expression of hepatic HSP70 mRNA of different tilapia strains artificially challenged with *Streptococcus iniae*

QIANG Jun^{1,2}, YANG Hong^{1,2}, WANG Hui³, XU Pao^{1,2*}, QI Zhuang-lin¹, HE Jie²

(1. Wuxi Fisheries College, Nanjing Agricultural University, Wuxi 214081, China;

2. Key Laboratory of Freshwater Fisheries and Germplasm Resources Utilization, Ministry of Agriculture, Freshwater Fisheries Research Center, Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuxi 214081, China;

3. Fisheries College, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524025, China)

Abstract: In order to establish the superiority, four different tilapia strains (GIFT tilapia, New GIFT tilapia, Egypt Nile tilapia and Red tilapia) were compared in the study. At day 100 tilapias in the treatment group were intraperitoneally injected with *Streptococcus iniae* suspension (2.95×10^8 /mL) to evaluate disease resistance of four different tilapia strains against *S. iniae* in terms of the serum biochemical parameters and hepatic HSP70 mRNA expression before and after infection. Another set of twenty fish taken from each tank was challenged with *S. iniae* using the same method as above, and the cumulative mortality of 4 strains was recorded at different times post infection. The results showed that GIFT tilapia and New GIFT tilapia were more sensitive to *S. iniae* at 96 h after infection, cumulative mortalities were 36.67% and 38.33% respectively. Egypt Nile tilapia was less sensitive to pathogen and no death occurred during the experiment. The levels of serum cortisol (COR) and glucose (GLU) and expression levels of HSP70 mRNA in GIFT tilapia, New GIFT tilapia and Red tilapia strains were highly significant ($P < 0.05$), and the activities of glutamic-pyruvic transaminase (ALT), glutamic-oxaloacetic transaminase (AST) and lysozyme (LSZ) also increased, while serum alkaline phosphatase (AKP), triglyceride and cholesterol levels were significantly lower than those prior to infection ($P < 0.05$). By utilizing the energy from resolved heparin and lipid, the synthesis of hepatic HSP70 mRNA and levels of LSZ and globulin in Egypt Nile tilapia were improved, and thus the non-specific immunity strengthened. It is suggested that in the course of tilapia breeding, effective combination of the disease resistance with growth be conducted so as to guarantee sustainable development of the tilapia industry.

Key words: tilapia; *Streptococcus iniae*; blood biochemical indices; HSP70 mRNA expression

Corresponding author: XU Pao. E-mail: xup@ffrc.cn