

珍珠贝多糖肽对合浦珠母贝非特异性免疫的影响*

周永灿¹ 陈永福² 曾水香¹ 龙丽娟² 张 隰¹ 海南大学海洋学院 海口 570228)² 中国科学院南海海洋研究所 广州 510301)

摘要 以不同浓度的珍珠贝多糖肽投喂合浦珠母贝 15~75d 后,实验合浦珠母贝 (*Pinctada martensii*) 的血细胞的总量及各种血细胞的数量、吞噬细胞的吞噬能力、血清对细菌的凝集、抑菌和杀菌活力等都有不同程度的增加,表明该珍珠贝多糖肽可以增强合浦珠母贝非特异性免疫能力。

关键词 合浦珠母贝 (*Pinctada martensii*), 非特异性免疫, 多糖肽

中图分类号 S945.1 **文献标识码** A **文章编号** 1000-3096(2003)11-0047-06

合浦珠母贝 (*Pinctada martensii*) 是当前我国乃至全球海水珍珠养殖的主要母贝^[1,2],但在我国近年来的合浦珠母贝人工养殖中,病害增多、养殖环境恶化以及自身抗病力的下降使其养殖成活率逐年降低^[3,4]。由于合浦珠母贝等无脊椎动物不能产生免疫球蛋白,缺乏抗体介导的特异性免疫反应,它们只能通过血细胞的吞噬作用、血清的凝集作用以及血清中各种非特异性免疫因子的抑菌与杀菌作用等非特异性免疫反应来抵御各种外来病原的侵害^[5]。已有的研究表明,合适的免疫刺激剂可以增加生物机体非特异性免疫能力,提高其整体抗病机能。为此,本文以珍珠贝多糖肽作为合浦珠母贝的免疫刺激剂,探讨其对合浦珠母贝非特异性免疫作用的影响。

1 材料与方 法

1.1 实验材料

珍珠贝多糖肽:由中国科学院南海海洋研究所提供,为珍珠贝软体部酶解后经乙醇提取并喷雾干燥得到的产品,其多糖肽含量为 84.1%~85.9%。多糖肽的测定方法参照张惟杰^[6]和北京大学生化教研室^[7]的方法进行。合浦珠母贝:为中国科学院海南热带海洋生物实验站(位于海南省三亚市鹿回头)人工养殖的 1 龄贝,选择壳长 5~5.5 cm 的健康个体。

1.2 实验方法

1.2.1 实验合浦珠母贝的养殖 自然海区养

殖的合浦珠母贝经清洗后,置于 80 cm×60 cm×50 cm 的室内实验池中充气暂养 7 d,再分组实验。实验共分 5 组,各组在每天上午 8 时全量换水 1 次,换水后在各池中加入适量扁藻 (*Platymonas* sp.)。此外,1~4 组每天换水 1 次,并在换水后分别加入不同数量的珍珠贝多糖肽,使各组水体中多糖肽的浓度依次为 5×10^{-6} 、 10×10^{-6} 、 20×10^{-6} 和 40×10^{-6} ;第 5 组为对照组,不投放珍珠贝多糖肽。每组养殖合浦珠母贝 80 只,每隔 15 d 各组随意取 10 只检测其血细胞含量及各种非特异性免疫活性,实验共进行 60 d。

1.2.2 血细胞计数及血清的制备方法

以解剖刀沿贝壳内侧切断闭壳肌并除去一侧贝壳,用滤纸吸去内脏团表面水分,再用注射器直接从闭壳肌与直肠之间的心脏内抽取血液。进行血细胞分类与计数时,将抽出的血液以固定染色液稀释 10 倍并混匀后,直接用血球计数板于显微镜下计算各种血细胞的数量和血细胞总量。固定染色液的配方为:0.2 mol/L 磷酸

* 国家科技型中小企业技术创新基金资助项目 00C26214600408 号。

第一作者:周永灿,出生于 1968 年,教授,博士,从事海洋生物病害研究。E-mail:zychnu@163.com

收稿日期:2003-05-29;修回日期:2003-09-21

缓冲液 (PBS, pH7.2) 和瑞氏 (Wright) 染色液 (0.1 g 瑞氏染料粉末溶于 50 mL 纯甲醇中, 一个月后方可使用) 3:1 混合后制成。制备血清时, 将心脏内抽出的血液以 3 000 r/min 离心 5 min, 取其上清液即为血清。

1.2.3 血液中吞噬细胞吞噬能力的测定 以无菌注射器从心脏内取血, 立即滴 2 滴到盛有 0.02 mL 3% 柠檬酸钠溶液的洁净凹玻片凹孔中, 轻轻搅动混匀, 再用滴管加 1 滴金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) 菌液 (浓度 6×10^{10} cells/mL) 于凹孔内, 充分混匀后将凹玻片置于有数层湿纱布的培养皿中, 在振荡培养箱内 37 °C 温育 30 min。然后, 用吸管取 1 滴血-菌混合液于洁净的载玻片上推成薄片, 室温下阴干, 接着滴加甲醇固定 3~4 min, 用蒸馏水冲洗晾干和用 1% 酒精美兰染色 2~3 min, 用蒸馏水冲洗, 晾干。最后置油镜观察。随机计算 20 个血细胞中的细菌数, 用以下公式计算其吞噬百分率 (P_p) 和吞噬指数 (P_i)^[8]:

$$P_p = (\text{20 个细胞中吞噬有细菌的细胞数} / \text{20}) \times 100\%$$

$$P_i = (\text{20 个细胞内吞噬细菌的总数} / \text{20}) \times 100\%$$

1.2.4 血清对细菌的凝集作用 取冷冻保存的副溶血弧菌 (*Vibrio parahaemolyticus*) 扩大培养后, 用 0.2 mL/L PBS (pH7.2) 制成菌悬液 (浓度为 1×10^9 cells/mL), 在血凝板上与等量的 2 倍梯度稀释的血清混合, 在振荡培养箱内经 37 °C 保温 6 h 后移至 4 °C 过夜, 检测其凝集效价^[9]。每组重复测量 1 次, 取平均值。

1.2.5 血清抑菌活性的测定 以血清将滤纸片 (直径为 7.60 mm) 全部浸透, 然后置于分别涂布有 0.1 mL 金黄色葡萄球菌和副溶血弧菌菌液 (菌液浓度均为 1×10^5 cells/mL) 的平板表面, 培养 24 h 后, 观察并记录滤纸片周围形成抑制圈的大小^[9]。

1.2.6 血清杀菌活性的测定 将金黄色葡萄球菌以无菌 PBS 配制成浓度约为 1×10^3 cells/mL 的菌悬液, 将该菌液与等量血清混合 (空白组用 0.2 mL/L PBS 代替血清) 并于 4 °C 震荡 2 h 后, 取混合液 0.1 mL 涂布于平板, 25 °C 培养 36 h, 计算平板上菌落数量^[9]。

1.2.7 珍珠贝多糖肽对合浦珠母贝抗病力的影响 以不同剂量的珍珠贝多糖肽投喂合浦珠母贝 60 d 后, 分别以合浦珠母贝溃疡病原溶藻弧菌进行

浸泡和注射感染: (1) 每组随意取实验合浦珠母贝 15 只, 分别置于另一水族箱中以相同的条件充气饲养, 并将预先培养的致病溶藻弧菌加入水族箱中, 使致病弧菌的浓度达到 5×10^5 cells/mL; (2) 每组随意取实验合浦珠母贝 15 只分别置于另一水族箱中充气饲养, 再以注射器从足部注入浓度为 2×10^9 cells/mL 的致病溶藻弧菌 0.2 mL/只 (空白对照注入等量的无菌 PBS)。实验合浦珠母贝以致病菌感染后连续 5 d 不换水 (每天仅以胶管少量吸出底部的粪便, 并补充等量的过滤海水), 5 d 后隔天换水 1/4, 观察记录各组实验合浦珠母贝感染后的活力, 并统计 20 d 内各组的成活率。

2 结果

2.1 多糖肽对合浦珠母贝血细胞数量的影响

表 1 结果表明, 虽然不同时间测得的各组实验合浦珠母贝的血细胞数量有一定的波动, 但从各种血细胞的变化趋势和血细胞总量来看, 当珍珠贝多糖肽投放浓度为 20×10^{-6} 时, 实验贝类透明细胞、小颗粒细胞和大颗粒细胞的数量均随着投放浓度的升高和投放时间的延长而呈增加趋势, χ^2 测验结果表明, 在投放珍珠贝多糖肽 30 d 和 45 d 后, 实验组的血细胞数量比对照组有显著升高 ($P < 0.05$); 在投放 60 d 后, 该组血细胞数量与对照组存在极显著差异 ($P < 0.01$)。若多糖肽投放浓度为 40×10^{-6} 时, 投放时间为 30~45 d 的血细胞总量随投喂时间延长而增加, 且与对照组存在显著差异 ($P < 0.05$); 但连续投放时间达 60 d 时, 实验贝类血细胞总量却与对照组差异不显著 ($P > 0.05$)。以 5×10^{-6} 和 10×10^{-6} 的珍珠贝多糖肽连续投喂实验合浦珠母贝后, 实验合浦珠母贝血细胞的数量均随投放时间的延长而呈增加趋势, 但以 5×10^{-6} 的多糖肽投放 15~60 d 时, 实验组血细胞数量均与对照组无显著差异; 而以 10×10^{-6} 的多糖肽投放 30 d 后, 实验组的血细胞数量比对照组有显著升高 ($P < 0.05$), 投放 60 d 后, 实验组与对照组血细胞数量的差异则达到了极显著水平 ($P < 0.01$)。

2.2 珍珠贝多糖肽对合浦珠母贝血细胞吞噬能力的影响

合浦珠母贝以不同浓度的珍珠贝多糖肽投放不同时间后, 其血细胞的吞噬百分率和吞噬指数均比对照组有不同程度的提高 (表 2)。在本文所实验的投放

表 1 珍珠贝多糖肽对合浦珠母贝血细胞数量的影响

Tab.1 Effects of protoglycan on the haemocyte number of *Pinctada martensii*

组别	多糖肽浓度 ($\times 10^{-6}$)	细胞种类	投喂后不同时间检测的血细胞数量($\times 10^5$ cells/ mL)			
			15 d	30 d	45 d	60 d
1	5	透明细胞	4.2	4.6	5.3	5.1
		小颗粒细胞	2.7	2.2	3.1	4.3
		大颗粒细胞	3.1	3.5	3.3	4.0
		血细胞总数	10.0	10.3	11.7	13.4
2	10	透明细胞	4.5	5.3	5.6	6.2
		小颗粒细胞	3.2	4.4	4.1	4.8
		大颗粒细胞	3.6	3.9	4.3	4.0
		血细胞总数	11.3	13.6*	14.0	15.0**
3	20	透明细胞	4.9	5.3	6.2	6.6
		小颗粒细胞	3.7	4.6	5.3	4.8
		大颗粒细胞	2.8	3.9	3.7	3.9
		血细胞总数	11.4	13.8*	15.2*	15.3**
4	40	透明细胞	4.5	6.1	5.7	5.3
		小颗粒细胞	3.5	4.3	4.6	4.0
		大颗粒细胞	3.6	4.2	4.1	3.7
		血细胞总数	11.6	14.6*	14.4*	13.0
对照	0	透明细胞	4.9	4.5	5.1	4.8
		小颗粒细胞	3.3	3.0	3.6	3.2
		大颗粒细胞	2.5	2.4	2.2	2.5
		血细胞总数	10.7	9.9	10.9	10.5

* 表示血细胞总量与同一时间检测的对照组有显著差异 ($P < 0.05$)。 ** 表示血细胞总量与同一时间检测的对照组有极显著差异 ($P < 0.01$)。

表 2 珍珠贝多糖肽对合浦珠母贝血细胞吞噬百分率 (P_p) 和吞噬指数 (P_i) 的影响

Tab.2 Effects of protoglycan on the phagocytic percentage (P_p) and phagocytic index (P_i) of the haemocyte of *Pinctada martensii*

组别	多糖肽浓度 ($\times 10^{-6}$)	投放不同时间的 P_p (%)				投放不同时间的吞噬指数 P_i			
		15 d	30 d	45 d	60 d	15 d	30 d	45 d	60 d
1	5	65	75	80	85	3.85	4.00	4.45	4.60
2	10	75	75	85	95	3.55	3.75	4.45	7.40
3	20	75	75	90	85	3.60	3.45	4.55	6.65
4	40	70	95	85	90	3.45	4.40	6.10	7.00
对照	0	70	75	70	75	3.15	3.00	3.10	2.95

浓度和投放时间下,以 10×10^{-6} 的珍珠贝多糖肽投放 60d 时实验合浦珠母贝的吞噬百分率和吞噬指数均达到最高,此时实验合浦珠母贝的吞噬百分率为 95%,吞噬指数达 7.4。

2.3 珍珠贝多糖肽对合浦珠母贝血清凝集作用的影响

珍珠贝多糖肽对合浦珠母贝血清凝集作用影响

情况见表 3。结果表明,投放珍珠贝多糖肽的各实验合浦珠母贝的血清凝集效价均比未投放珍珠贝多糖肽的对照组有明显升高。当珍珠贝多糖肽的投放浓度为 $5 \times 10^{-6} \sim 20 \times 10^{-6}$ 时(第 1~3 组),在相同时间测定的实验合浦珠母血清对副溶血弧菌的凝集效价随多糖肽投放浓度的升高而少量下降;而在本文的实验时间内,同一投放浓度下的实验合浦珠母贝血清对溶

表 3 珍珠贝多糖肽对合浦珠母贝血清凝集效价的影响

Tab.3 Effects of protoglycan on the agglutinating titres of the serum of *Pinctada martensii*

组别	多糖肽浓度 ($\times 10^{-6}$)	对副溶血弧菌的凝集效价			
		15 d	30 d	45 d	60 d
1	5	16	24	64	64
2	10	12	24	16	48
3	20	12	16	24	32
4	40	32	24	12	12
对照	0	4	6	6	4

血弧菌的凝集效价却随着投放时间的延长而呈升高趋势。当珍珠贝多糖肽的投放浓度为 40×10^{-6} 时(第 4 组), 投放 15 d 时实验贝类的血清凝集效价达到最高值 (2^5), 此后 30 ~ 60 d 的血清凝集效价却随着投放时间的延长而逐渐降低。

2.4 珍珠贝多糖肽对合浦珠母贝血清抑菌作用的影响

珍珠贝多糖肽对合浦珠母贝血清抑菌作用因细菌的种类不同而存在一定的差异(表4)。以 $5 \times 10^{-6} \sim 40 \times 10^{-6}$ 的珍珠贝多糖肽投放合浦珠母贝 15 ~ 60 d

表 4 珍珠贝多糖肽对合浦珠母贝血清抑菌作用的影响

Tab.4 Effects of protoglycan on the microbiostatic activity of the serum of *Pinctada martensii*

组别	多糖肽浓度 ($\times 10^{-6}$)	对副溶血弧菌的抑菌圈(mm)				对金黄色葡萄球菌的抑菌圈(mm)			
		15 d	30 d	45 d	60 d	15 d	30 d	45 d	60 d
1	5	8.2	9.5	10.1	10.3	-	-	7.7	7.7
2	10	7.8	8.3	9.0	9.1	-	-	7.8	-
3	20	8.0	8.2	8.3	9.0	-	7.8	7.9	7.8
4	40	8.5	8.1	8.4	8.5	-	7.9	7.9	8.0
对照组	0	8.6	8.4	8.0	7.8	-	-	-	-
空白组	0(无血清)	-	-	-	-	-	-	-	-

注:用于测定抑菌圈的滤纸片的直径为 7.6 mm,表中所列的各抑菌圈值包括滤纸片的大小;“-”表明没有形成抑菌圈。

后,其血清对副溶血弧菌的抑制作用均比对照组有显著提高,其中,以 5×10^{-6} 的多糖肽投放 60 d 的实验组抑菌作用最强,其抑菌圈达到 10.3 mm。不过,合浦珠母贝血清对金黄色葡萄球菌的抑菌作用明显要比对副溶血弧菌弱,所有对照组和投放时间为 15 d 的实验组均与空白组一样,没有形成明显的抑菌圈;只有在投放较高浓度 ($20 \times 10^{-6} \sim 40 \times 10^{-6}$) 的多糖肽

30d 后或投放较低浓度($5 \times 10^{-6} \sim 10 \times 10^{-6}$) 的多糖肽 45 d 后,实验合浦珠母贝血清对金黄色葡萄球菌的抑制作用才比对照组和空白对照组稍有提高。

2.5 珍珠贝多糖肽对合浦珠母贝血清杀菌活性的影响

图 1 结果表明,尽管合浦珠母贝在不投放珍珠贝多糖肽的情况下,其血清对金黄色葡萄球菌也有一

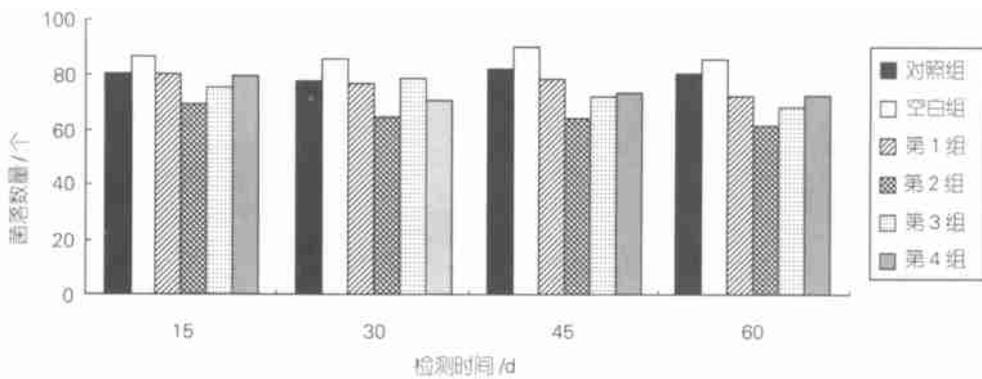


图 1 珍珠贝多糖肽对合浦珠母贝血清杀菌活性的影响

Fig.1 Effects of protoglycan on the bactericidal activity of the serum of *Pinctada martensii*

定的杀灭作用(加入血清的对照组中活菌的含量比未加入血清的空白组要少),但对合浦珠母贝投放珍珠贝多糖肽后,其血清的杀菌能力可以得到进一步提高。在本文所实验的各种投放浓度中,以第2组(珍珠贝多糖肽投放浓度为 10×10^{-6})的合浦珠母贝血清杀菌活性最高;并且,在 $5 \times 10^{-6} \sim 40 \times 10^{-6}$ 的各种投放浓度下,实验合浦珠母贝血清杀菌活性均随着投放时间的延长而升高。

2.6 珍珠贝多糖肽对合浦珠母贝整体抗病力的影响

以 $5 \times 10^{-6} \sim 40 \times 10^{-6}$ 珍珠贝多糖肽投饲合浦珠

母贝 60 d 后,分别以浸泡法和注射法感染溃疡病原体——溶藻弧菌的结果表明(表5),所有投饲珍珠贝多糖肽的合浦珠母贝的感染成活率均比对照组高。

t 检测结果表明,以浸泡法感染 20 d 内,第1组和第2组合浦珠母贝的成活率均与对照组有显著差异 ($P < 0.05$),第4组合浦珠母贝的成活率与对照组有极显著差异 ($P < 0.01$);以注射法感染 20 d 内,第1组和第3组合浦珠母贝的成活率与对照组有显著差异 ($P < 0.05$),而第2组和第4组合浦珠母贝的成活率与对照组有极显著差异 ($P < 0.01$)。

表5 珍珠贝多糖肽对合浦珠母贝整体抗病力的影响

Tab.5 Effects of protoglycan on disease resistance of *Pinctada martensii*

组别	多糖肽浓度 ($\times 10^{-6}$)	浸泡法感染 20 d 后			注射法感染 20 d 后		
		感染数(只)	成活数(只)	成活率(%)	感染数(只)	成活数(只)	成活率(%)
1	5	15	14	93.3*	15	10	66.7*
2	10	15	14	93.3*	15	11	73.3**
3	20	15	13	86.7	15	10	66.7*
4	40	15	15	100**	15	12	80**
对照组	0	15	10	66.7	15	6	40

* 表示成活率与同一时间检测的对照组有显著差异 ($P < 0.05$); ** 表示成活率与同一时间检测的对照组有极显著差异 ($P < 0.01$)。

3 讨论

合浦珠母贝等无脊椎动物由于缺乏特异性免疫反应,因此,它只能以血液中的各种非特异性免疫细胞或免疫因子来抵御外来病原的侵袭。本文的研究结果表明,在给实验合浦珠母贝投饲不同浓度的珍珠贝多糖肽后,合浦珠母贝血细胞的数量、血细胞对金黄色葡萄球菌的吞噬率和吞噬指数、血清对副溶血弧菌的凝集效价以及血清对金黄色葡萄球菌和副溶血弧菌的抑菌和杀菌效果都有不同程度的提高;以浸泡法和注射法攻毒感染致病溶藻弧菌的结果也表明,合浦珠母贝连续 60d 投喂不同浓度的珍珠贝多糖肽后,其整体抗病能力均有不同程度的提高,攻毒成活率均高于未攻毒的对照组。其中,就珍珠贝多糖肽在不同投放浓度下对实验合浦珠母贝的总体作用效果而言,虽然不同投放浓度对实验合浦珠母贝的不同免疫指标的作用效果有所差异,但对实验合浦珠母贝综合免疫效果提高幅度最大的投喂浓度为 10×10^{-6} (第2组),攻毒实验结果也表明,以 10×10^{-6} 浓度的珍珠贝多糖肽投饲的实验组的感染成活率最高,因此,今后给珍

珠贝养殖池内添加珍珠贝多糖肽时,建议使用的投放浓度为 10×10^{-6} 。

本文研究结果表明,珍珠贝多糖肽虽然对合浦珠母贝的多种免疫指标都有良好的提高作用,但在不同投放浓度、不同投放时间以及对不同免疫指标的作用效果也存在一定的差异。在通常情况下,珍珠贝多糖肽的投放浓度较低 (5×10^{-6}) 时,其作用效果随投饲时间的延长而升高;而在高浓度下 (40×10^{-6}),其作用效果有时随投饲时间的延长而下降,说明长时间地高浓度投放珍珠贝多糖肽对合浦珠母贝的非特异性免疫功能还具有一定的反向调节作用。至于相同浓度的珍珠贝多糖肽对合浦珠母贝不同免疫指标作用效果间的差异,可能是不同免疫指标的作用机理不一致,当然,具体原因还有待进一步探索。

在合浦珠母贝等无脊椎动物的病害防治研究中,以合适的免疫增强剂来提高机体的非特异性免疫力已成为当前重要的发展方向,现已有大量的相关研究报道。周歧存等的研究表明,在饲料中适量添加 V_6 对幼鲍生长具有良好的促进作用^[10];张起信等的研究也表明,口服免疫多糖具有激活鲍苗自身免疫系统,

增强免疫功能作用,可有效地提高鲍苗的抗病能力和鲍苗的成活率^[1]。本文所研究的珍珠贝虽然摄食方式与鲍鱼不同(前者为滤食,后者为吃食),但研究结果与周歧存等^[10]和张起信等^[11]的类似,因此,在养殖水体中添加悬浮性的珍珠贝多糖肽微颗粒等非特异性免疫增强剂,将可有效提高养殖合浦珠母贝的非特异性免疫功能,提高其整体防病能力。

参考文献

- 1 谢玉坎. 珍珠科学. 北京:海洋出版社, 1995. 31 - 227
- 2 符韶, 邓陈茂, 梁飞龙. 马氏珠母贝养殖与育珠具的改进. 海洋科学, 2000, 25(3): 23 - 24
- 3 姜卫国, 许国强, 林岳光, 等. 合浦珠母贝三倍体和二倍体生长比较. 热带海洋, 1991, 10(3): 1 - 7
- 4 吴教东, 毕南开. 实用珍珠养殖技术. 北京:金盾出版社, 1993. 1 - 23
- 5 周永灿, 潘金培. 贝类细胞和体液的防御机制研究进展. 水产学报, 1997, 21(4): 449 - 454
- 6 张惟杰. 复合多糖生化研究技术. 上海:上海科学出版社, 1987. 290 - 291
- 7 北京大学生化教研室. 基础生物化学实验指导. 北京:高等教育出版社, 1986. 112 - 113
- 8 王军, 鄢庆彬, 苏永全, 等. 免疫添加物对大黄鱼血液白细胞数量及其吞噬功能的影响. 海洋科学, 2001, 25(9): 44 - 46
- 9 牟海津, 江晓路, 刘晓青, 等. 双壳贝类血清中凝集素凝集性能初步研究. 青岛海洋大学学报, 1999, 29(2): 249 - 254
- 10 周歧存, 麦康森, 谭孔平, 等. V_E 对皱纹盘鲍生长存活及体成分的影响. 海洋与湖沼, 2001, 32(2): 125 - 130
- 11 张起信, 刘光穆, 牛明宽, 等. 免疫多糖在鲍育苗中应用的初步探讨. 齐鲁渔业, 2002, 19(4): 3 - 4

EFFECTS OF PROTOGRYCAN FROM PEARL OYSTER ON NON-SPECIFIC IMMUNOLOGY OF *Pinctada martensii*

ZHOU Yong - Can¹ CHEN Yong - Fu² ZENG Shui - Xiang¹ LONG Li - Juan² ZHANG Si²

(¹ Oceanology College of Hainan University, Hai Kou, 570228)

(² South China Sea Institute of Oceanology, CAS, Guangzhou, 510301)

Received: May, 29, 2003

Key Words: *Pinctada martensii*, Nonspecific immunology, Protogrycan

Abstract

Pinctada martensii were fed with protogrycan isolated from pearl oysters for 15 - 75 days. The results show that total blood cells, all types of blood cells, phagocytic activity of their phagocytic cells, agglutinating activity, microbiostatic activity and bacteriocidal activity of their serum were all increased to a greater or lesser extent. The indicates that protogrycan can increase non-specific immunology of *P. martensii*.

(本文编辑:张培新)