

致病溶藻弧菌脂多糖对点带石斑鱼毒性和免疫原性的影响

徐先栋, 谢珍玉, 王世锋, 宣雄智, 周永灿

(海南大学 海洋学院, 海南省热带水生生物技术重点实验室, 海南 海口 570228)

摘要: 以热酚水抽提法提取致病溶藻弧菌(*Vibrio alginolyticus*)粗脂多糖(Lipopolysaccharides, LPS), 并将不同浓度的溶藻弧菌粗LPS通过腹腔注射法接种点带石斑鱼(*Epinephelus coioides*), 研究该LPS对点带石斑鱼毒性和免疫原性的影响, 并同弱致病溶藻弧菌粗LPS及高纯度大肠杆菌(*Escherichia coli*)LPS对石斑鱼的刺激效果进行比较。结果表明: 溶藻弧菌致病株和弱致病株粗LPS均对石斑鱼具有比较强的毒性, 溶藻弧菌LPS对石斑鱼的免疫原性随LPS浓度的增高而增强, 高纯度大肠杆菌LPS对石斑鱼的免疫原性效果要优于溶藻弧菌粗LPS。

关键词: 溶藻弧菌(*Vibrio alginolyticus*); 脂多糖; 毒性; 免疫原性

中图分类号: S942.5

文献标识码: A

文章编号: 1000-3096(2010)03-0047-05

脂多糖(Lipopolysaccharides, LPS)是位于革兰氏阴性菌(G⁻)细胞壁最外层的类脂多糖类物质, 是G⁻病原菌致病物质内毒素的物质基础^[1], 同时, LPS也具有较好的免疫原性, 可以刺激增强受免机体的免疫力^[2-4], 为鱼用免疫制剂的研究和应用提供了一条良好途径。目前, 有关LPS对水产动物免疫原性影响的研究报道很多^[5-8], 但将LPS的毒性及免疫原性结合起来研究报道较少, 为此, 本研究利用热酚水抽提法^[9]提取的海水养殖动物常见病原菌——溶藻弧菌(*Vibrio alginolyticus*)的LPS, 并以该LPS为研究对象, 对致病力不同的溶藻弧菌粗制LPS的毒性进行了初步的比较, 同时, 也选择了高纯度大肠杆菌(*Escherichia coli*)作为对照, 比较溶藻弧菌粗制LPS与高纯度的大肠杆菌LPS对点带石斑鱼(*Epinephelus malabaricus*)的免疫刺激效果。

1 材料与方 法

1.1 材 料

1.1.1 供试菌及LPS试剂

本实验采用的致病菌株HN08155为2006年5月从海南陵水某石斑鱼养殖鱼排患病点带石斑鱼(*Epinephelus malabaricus*)体内分离获得的菌株, 经分离纯化, 生化鉴定, 及溶藻弧菌快速检测试剂盒(专利号: ZL01130127.9, 中国科学院南海海洋研究所)鉴定和攻毒实验确定为致病性溶藻弧菌, Genbank登录号FJ906748。弱致病菌株HN07006为2006年6月从海南海口周边海域水体中分离, 经纯化, 生化

鉴定, 溶藻弧菌快速检测试剂盒鉴定和攻毒实验确定为弱致病性溶藻弧菌, Genbank登录号FJ906747。菌种于-80℃冰箱保存。

1.1.2 实验石斑鱼

实验用点带石斑鱼购自海南陵水养殖场, 为体质量50 g±10 g的无患病史的健康个体。试验鱼在室内玻璃水族缸(50 cm×40 cm×50 cm)中经7 d充气暂养无异常后按实验要求分组, 每个水族箱放养点带石斑鱼8尾, 每天定时投喂新鲜小杂鱼1次, 投喂量为鱼体质量的1.0%, 实验水温为28℃±2℃。

1.2 方 法

1.2.1 脂多糖的提取

脂多糖的提取按改良的热酚水抽提法^[9]进行, 具体如下:

A. 经扩大培养的菌液以5 000 r/min离心5 min, 沉淀称湿质量, 收集后置4℃保存;

B. 取5 g细菌悬浮于15 mL浓度为50 mmol/L的磷酸缓冲液(pH 7.0, 内含5 mmol/L的EDTA)中, -80℃作用15 min, 室温解冻, 反复冻融5次;

C. 加入100 mg溶菌酶, 4℃过夜, 再在37℃

收稿日期: 2009-04-20; 修回日期: 2009-08-19

基金项目: 国家自然科学基金项目(30660144); 新世纪优秀人才支持计划项目(NCET-05-0755); 海南大学2009年度科研项目(hd09xm57)

作者简介: 徐先栋(1982-), 男, 江西鄱阳人, 硕士研究生, 研究方向: 水生生物病害及其控制, 电话: 15270927610, E-mail: xuxd2009@163.com, 周永灿, 通信作者, E-mail: zychnu@163.com

温育 30 min;

D. 加入 50 mmol/L 磷酸缓冲液(pH 7.0, 内含 5 mmol/L EDTA, 20 mmol/L MgCl₂) 至 30 mL, 加入 RNase 和 DNase 加至终质量浓度为 5 μg/mL, 悬液 37 °C 温育 3 h; 加入蛋白酶 K, 至终质量浓度为 5 μg/mL, 50 °C 温育 2 h;

E. 置于 70 °C 的水浴中平衡后, 加入相同体积的预热至 70 °C 的酚, 充分剧烈混合并作用 20 ~ 30 min;

F. 用冰水浴快速冷却 15 min, 10 000 r/min 离心 (4 °C) 15 min, 离心后分 3 层(由上至下分别为含 LPS 的水层、含变性蛋白的酚层和含其他物质的不溶层), 小心吸取上层水相装于透析袋;

G. 用蒸馏水透析 3 d(4 °C), 每天换水数次;

H. 聚乙二醇 2 000 浓缩为原来体积的 1/4;

I. 1500 r/min 离心 30 min, 弃沉渣, 收集上清, 经冷冻干燥后 -20 °C 保存备用。

1.2.2 脂多糖的检测

所分离的 LPS 先经十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶(SDS-PAGE)电泳, 再以 Tsai 等^[10]的方法银染检测。

1.2.3 LPS 毒性试验

LPS 毒性试验按以下方法进行分组: 第 1 ~ 7 组为腹腔注射以灭菌磷酸缓冲液(PBS, pH7.2)配制的溶藻弧菌 HN08155 菌株粗制 LPS 溶液, 其质量浓度分别为 80、40、20、10、5、2.5 和 1.25 g/L; 第 8 组为腹腔注射以灭菌 PBS 配制的溶藻弧菌 HN07006 菌株粗制 LPS 溶液, 其质量浓度为 40 g/L; 第 9 组为腹腔注射购自 Sigma 公司的大肠杆菌 LPS 溶液, 其浓度为 2 g/L; 第 10 组为对照组, 腹腔注射无菌 PBS。上述配制的各组 LPS 溶液经 65 °C 加热 10 min^[6], 每组分别注射 8 尾点带石斑鱼, 注射剂量为 0.1 mL/尾。每组设置 1 个重复(每组接种 16 尾石斑鱼)。首次接种 7 d 后, 对存活的各组实验点带石斑鱼再以相同的方法加强注射 1 次。每天观察, 统计各组点带石斑鱼的死亡率。

1.2.4 LPS 免疫原性测定

第 2 次注射 LPS 28 d 后, 取具有统计学意义(即实验石斑鱼数量 5 尾, 或加上重复组实验石斑鱼数量 10 尾)^[13]的实验组和对照组进行 LPS 免疫原性测定。每组随机捞取 5 尾供试点带石斑鱼, 尾静脉取血。每尾鱼的血液分 2 份, 先取约 50 μL 添加肝素抗凝, 按沈萍等^[11]方法测定吞噬细胞的吞噬活性; 剩

余部分不添加肝素, 于室温下倾斜放置 1 h 后, 置 4 °C 冰箱过夜, 1 000 r/min 离心 10 min 分离血清, -20 °C 保存备用, 用于测定血清抗菌活性、溶菌活性和酚氧化酶(PO: Polyphenol oxidase)活性, 测定方法同王雷等^[12]方法。

2 结果

2.1 LPS 的提取及检测

用 2216E 培养液分别培养 2 L 溶藻弧菌 HN08155 菌株和 HN07006 菌株, 培养 36 h 后离心各得菌液 45 mL。采用改良的热酚水抽提法获得粗 LPS 溶液各 50 mL。分别取溶藻弧菌 HN08155 菌株粗制 LPS 溶液和 HN07006 菌株粗制 LPS 溶液 10 μL, 经 SDS-PAGE 电泳检测和银染, 结果(图 1)表明, 溶藻弧菌 HN08155 菌株粗制 LPS 和 HN07006 菌株粗制 LPS 存在明显差异, 其中, HN07006 菌株的 LPS 明显可见 8 条分子质量大小不一的条带, 而 HN08155 菌株的 LPS 除 2 条明显可辨的小分子质量条带外, 其他部分呈弥散状态。

图 1 各胶孔处未见染色表明无残留不溶于水的多糖类物质, 且 LPS 提取过程中使用大量蛋白酶 K 处理, 避免蛋白质污染, 因而本实验所提的 LPS 具有较高的纯度。本实验所得溶藻弧菌 HN08155 菌株粗制 LPS 和溶藻弧菌 HN07006 菌株粗制 LPS 浓缩溶液各 30 mL, 经冷冻干燥后, 分别获得干燥的粉末 512 mg 和 351.7 mg。

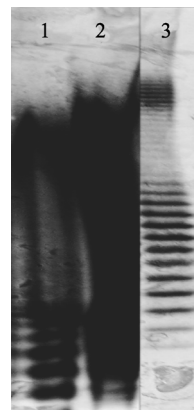


图 1 不同 LPS 的 SDS-PAGE 电泳检测银染结果
Fig. 1 The silver-stain result of SDS-PAGE for different LPSs

1. 溶藻弧菌 HN08155 菌株粗制 LPS; 2. 溶藻弧菌 HN07006 菌株粗制 LPS; 3. 大肠杆菌(*E. coli*)LPS
1. the rough LPS of *V. alginolyticus* HN08155; 2. the rough LPS of *V. alginolyticus* HN07006; 3. the LPS of *E. coli*

2.2 LPS 对点带石斑鱼的毒性

通过腹腔注射溶藻弧菌致病菌株 HN08155 和弱致病菌株 HN07006 粗制 LPS 溶液和大肠杆菌 LPS 溶液, 检测 LPS 溶液对点带石斑鱼的毒性结果表明(表 1), 溶藻弧菌致病菌株 HN08155 粗制 LPS 注射剂量在 0.25 mg/尾以下时, 实验点带石斑鱼 100%成活; 注射剂量达 0.5 mg/尾以上时, 实验石斑鱼开始死亡; 注射剂量达 4 mg/尾以上时, 死亡率达 100%。溶藻弧菌弱致病性菌株 HN07006 粗制 LPS 注射剂量为 4 mg/尾时, 实验石斑鱼死亡率也达到 100%, 说明溶藻弧菌致病菌株 HN08155 和弱致病菌株 HN07006 粗制 LPS 对点带石斑鱼均具有较强的毒性, 并且, 实验中可观察到点带石斑鱼濒死前出现抽搐症状。大肠杆菌 LPS 的注射剂量为 0.2 mg/尾时, 实验点带石斑鱼未出现死亡现象。

2.3 吞噬细胞的吞噬活性

LPS 经毒性检测后, 根据在数量上具有统计学意义的原则(即实验石斑鱼数量 5 尾, 或加上重复组实验石斑鱼数量 10 尾)^[13], 取实验组 4、组 6、

组 7、组 9 和对照组 10 进行免疫活性测定, 其中, 各组吞噬细胞的吞噬活性的测定结果见表 2。结果表明, 各实验组点带石斑鱼血液中吞噬细胞的吞噬率和吞噬指数均显著高于对照组($P < 0.05$)。其中, 在溶藻弧菌致病性菌株 HN08155 粗制 LPS 的安全接种范围内, 点带石斑鱼血液吞噬细胞的吞噬活性随该 LPS 的接种剂量增加而增强; 溶藻弧菌致病性菌株 HN08155 粗制 LPS 的接种量为 1 mg/尾时(实验第 4 组), 对石斑鱼血液吞噬细胞的吞噬活性与接种 0.2 mg/尾的大肠杆菌 LPS 相当。

2.4 血清的抗菌活性、溶菌活性及酚氧化酶活性

点带石斑鱼经 LPS 加强免疫刺激 28 d 后, 其血清进行溶菌活性、抗菌活性及酚氧化酶活性检测, 结果见表 3 和表 4。由表 3 可见, 注射 0.2 mg/尾大肠杆菌 LPS 组各项指标表现为最强, 显示大肠杆菌 LPS 对点带石斑鱼产生良好的免疫刺激效果, 注射 1 mg/尾量的溶藻弧菌致病菌株 HN08155 粗制 LPS 组点带石斑鱼的效果次之, 接种低浓度(0.25 mg/尾和 0.125 mg/尾)溶藻弧菌致病菌株 HN08155 粗制 LPS 组对石

表 1 不同 LPS 对点带石斑鱼的毒性

Tab. 1 The lethalties of different LPSs on *E. malabaricus*

组别	LPS 来源	LPS 质量浓度(g/L)	接种数量(尾)	接种剂量(mL/尾)	接种后不同时间的死亡数(尾)					总死亡数(尾)	死亡率(%)
					12 h	24 h	36 h	48 h	72 h		
1	HN08155	80	16	0.1	10	5	1	0	0	16	100
2	HN08155	40	16	0.1	13	2	1	0	0	16	100
3	HN08155	20	16	0.1	8	1	1	0	0	10	62.5
4	HN08155	10	16	0.1	3	0	2	0	0	5	31.3
5	HN08155	5	16	0.1	3	2	1	1	0	7	43.8
6	HN08155	2.5	16	0.1	0	0	0	0	0	0	0
7	HN08155	1.25	16	0.1	0	0	0	0	0	0	0
8	HN07006	40	16	0.1	11	3	1	0	1	16	100
9	<i>E. coli</i>	2	16	0.1	0	0	0	0	0	0	0
10	无		16	0.1	0	0	0	0	0	0	0

表 2 点带石斑鱼血液中吞噬细胞吞噬活性比较

Tab. 2 Comparison of phagocytic activities of leucocytes of *E. malabaricus* immunized by different LPSs

项目	不同组别的吞噬活性				
	4	6	7	9	10(对照组)
PP(%)	38.2±2.56*	29.7±3.48*	25.3±1.92*	37.1±2.33*	18.7±4.21
PI	0.89±0.04*	0.63±0.02*	0.67±0.06*	1.01±0.01*	0.51±0.02

注: PP: 吞噬率 Phagocytic percentage = (100 个中性粒细胞中吞噬细菌的细胞数/100)×100%; PI: 吞噬指数 Phagocytic index = 100 个粒细胞吞噬细菌的总数/100; *表示与对照组相比有显著性差异($P < 0.05$)

Note: PP is abbreviated from phagocytic percentage = Phagocytosis Percentage = (numbers of macrophages having phagocytized *Staphylococcus.albus*/100)× 100%; PI is abbreviated from Phagocytic Index = numbers of phagocytized *S.albus*/100(count total number of 100 macrophages). * means significantly different ($P < 0.05$) compared to the control groups

表 3 LPS 对点带石斑鱼血清及抗菌活性和溶菌活性的影响

Tab. 3 The influences of LPSs on serum antibacterial and lysozyme activities in *E. malabaricus*

项目	不同组别的抗菌活性和溶菌活性				
	4	6	7	9	10(对照组)
抗菌活性	0.205	ND	0.168	0.228	0.200
溶菌活性	0.021	0.021	0.017	0.032*	0.015

注: ND 表示未检测; *表示与对照组相比有显著性差异($P < 0.05$)

表 4 LPS 对点带石斑鱼血清酚氧化酶活性的影响

Tab. 4 The influences of LPS on serum phenol oxidase (PO) activities in *E. malabaricus*

项目	各组别实验石斑鱼的酚氧化酶活性				
	4	6	7	9	10(对照组)
PO 活性	20.0	14.6	18.2	21.8	15.5

注: PO 表示酚氧化酶

斑鱼血清的溶菌活性、抗菌活性及酚氧化酶活性的刺激作用最差。

3 讨论

已有研究表明,不同来源的 LPS 对水产动物都具有较强的毒性,在一定浓度范围内,随着接种剂量的增加,其致死率也随着增加。叶剑敏等^[13]以 17 mg/kg 鱼的剂量为 40 ~ 70 g 赤点石斑鱼接种溶藻弧菌 LPS,可造成 40%供试石斑鱼死亡;周永灿等^[14]以嗜麦芽假单胞菌 LPS 接种卵形鲳鲹,结果表明该 LPS 对卵形鲳鲹(*Trachinotus ovatus*)最低致死剂量大于 80 mg/kg;陈昌福等^[15]以鱼害粘球菌(*Myxococcus piscicola*)LPS 腹腔接种草鱼,结果表明该 LPS 对 50 ~ 100 g 草鱼造成伤害的剂量为 5 mg/kg,全致死剂量为 25 mg/kg;张建设等^[16]测定的副溶血弧菌 LPS 对牙鲆的最低致死剂量为 60 mg/kg;此外,陈昌福等^[17]以 45 mg/kg 鱼的剂量对鳜(*Siniperca chuatsi*)接种嗜水气单胞菌 LP 却未发现中毒症状;Matsuyama 等^[18]以 2 ~ 10 mg/kg 的多种 LPS 接种鲤鱼也未发现异常反应。本研究用热酚水抽提法提取的溶藻弧菌粗 LPS 对点带石斑鱼的毒性研究结果也表明,该溶藻弧菌粗提 LPS 对点带石斑鱼也具有较强毒性,粗 LPS 的接种量为 9 mg/kg 时,点带石斑鱼致死率为 65.5%;而粗 LPS 接种量为 72 mg/kg 时,受免点带石斑鱼的死亡率为 100%。作者制备的溶藻弧菌粗 LPS 对点带石斑鱼的最低致死剂量为 5 mg/kg,其毒性与陈昌福等^[15]制备的鱼害粘球菌 LPS 相当,但强于叶剑敏等^[13]制备的溶藻弧菌 LPS、周永灿等^[14]制备的嗜麦芽假单胞菌 LPS、张建设等^[16]制备的副溶血弧菌 LPS、陈昌福等^[17]制备的嗜水气单胞菌 LPS 以及

Matsuyama 等^[18]研究的多种 LPS。

作者对致病性溶藻弧菌菌株 HN08155 粗制 LPS 和弱致病性溶藻弧菌菌株 HN07006 粗制 LPS 对点带石斑鱼的毒性差异研究结果表明,尽管两者 SDS-PAGE 条带的银染结果存在明显差异,但它们对点带石斑鱼毒性相当,以 4 mg/尾的用量接种 50 g 左右的点带石斑鱼后,两者均可造成接种石斑鱼 100%死亡,这说明溶藻弧菌 LPS 的 2 条分子质量最小条带不是其菌株毒力的主要成分,同时也表明 LPS 不是溶藻弧菌关键毒力因子。

国内外很多研究报道均表明,LPS 对水产动物具有良好的免疫保护作用。本研究结果表明,以 1 mg/尾的剂量对点带石斑鱼接种(实验第 4 组)的 LPS 后,血液中白细胞吞噬活性、血清抗菌活性、溶菌活性及酚氧化酶活性与对照组相比均明显增强,说明溶藻弧菌的 LPS 也对提高点带石斑鱼非特异性免疫保护力作用显著。但本研究结果也表明,产生良好免疫保护作用的 LPS 剂量对实验动物也产生一定的毒性,一般情况下,在安全剂量范围内的 LPS 对点带石斑鱼的免疫保护效果不强,因此,应用溶藻弧菌 LPS 作为免疫制剂需权衡其毒性和免疫保护作用的利弊,这与鄢庆彬等^[19]利用该菌的 LPS 对大黄鱼(*Pseudosciaena crocea* Richardson)毒性和免疫效果研究结果一致。不过,简纪常等^[5]利用 3.2 mg/尾剂量的溶藻弧菌 LPS 接种 40 ~ 70 g 赤点石斑鱼(*Epinephelus akaara*)的研究结果则表明,该浓度的溶藻弧菌 LPS 不但对赤点石斑鱼没有毒性,还可诱导提高赤点石斑鱼的非特异性免疫功能,说明不同试验动物对溶藻弧菌 LPS 的敏感性可能存在差异。此外,本研究采用低剂量(0.2 mg/尾)、高纯度的大肠

杆菌 LPS 刺激点带石斑鱼的结果也表明, 该 LPS 不仅对实验点带石斑鱼没有明显毒性, 比本研究制备的溶藻弧菌 LPS 还有更好的免疫保护效果, 说明不同菌种来源的 LPS 对点带石斑鱼的毒性和免疫保护作用也可能存在差异。

参考文献:

- [1] 周德庆. 微生物学教程[M]. 第二版. 北京:高等教育出版社, 2002. 15.
- [2] Kawai K, Kusuda R. Efficacy of the lipopolysaccharide vaccine against *virbriosis* in cultured ayu[J]. **Bull Jap Soc Sci Fish**, 1983, **49**(4): 511-514.
- [3] Ingram G A, Alexander J B. The immune response of brown trout *Salmo trutta* to lipopolysaccharide[J]. **J Fish Biol**, 1980, **16**(2): 181-197.
- [4] 陈昌福, 陈超然. 鱼类三种致病菌的粗脂多糖对异育银鲫的免疫原性[J]. 水生生物学报, 2002, **26**(5): 483-488.
- [5] 简纪常, 叶剑敏, 吴灶和. 溶藻弧菌脂多糖对石斑鱼免疫功能的影响[J]. 水生生物学报, 2004, **28**(1): 103-105.
- [6] 陈昌福, 吴志新. 三种爱德华氏菌脂多糖对日本鳗鲡免疫原性的比较[J]. 水生生物学报, 1998, **22**(增刊): 126-131.
- [7] Solem S T, Jørgensen J B, Rørbotten B. Stimulation of respiratory burst and phagocytic activity in Atlantic salmon(*S. salar* L)macrophages by lipopolysaccharide[J]. **Fish and Shellfish Immunology**, 1995, **5**: 475-491.
- [8] Salati F, Kawai K, Kusuda R. Immune response of eel to *Edwardsiella tarda* lipopolysaccharide[J]. **Fish Path**, 1984, **19**: 187-192.
- [9] Westphal O, Jann K. Bacterial lipopolysaccharide extraction with phenol-water and further applications of the procedure[J]. **Methods Carbohydr Chem**, 1965, **5**: 83-91.
- [10] Tsai C M, Frasch C E. A sensitive silver stain for detecting lipopolysaccharides in polyacrylamide gels[J]. **Anal Biochem**, 1982, **119**: 115-119.
- [11] 沈萍, 范秀容, 李广武. 微生物学实验[M]. 第三版. 北京: 高等教育出版社, 1999. 162-163.
- [12] 王雷, 李光友, 毛远兴, 等. 口服免疫型药物对养殖中国对虾病害防治作用的研究[J]. 海洋与湖沼, 1994, **25**(5): 486-491.
- [13] 叶剑敏, 简纪常, 吴后波, 等. 溶藻弧菌脂多糖的化学成分分析及其对石斑鱼的毒性[J]. 水生生物学报, 2004, **28**(5): 574-576.
- [14] 周永灿, 张本, 陈雪芬, 等. 嗜麦芽假单胞菌脂多糖的制备及其在卵形鲳鲹中的免疫效应[J]. 水产学报, 2002, **26**(2): 143-148.
- [15] 陈昌福, 纪国良. 草鱼对鱼害粘球菌类脂多糖的免疫反应[J]. 淡水渔业, 1989, **4**: 3-5.
- [16] 张建设, 周丽, 邢婧, 等. 致病性副溶血弧菌脂多糖的制备及其对牙鲆的免疫效应[J]. 中国海洋大学学报, 2004, **34**(4): 571-576.
- [17] 陈昌福, 邓建平, 楠田理一. 不同方法提取的嗜水气单胞菌脂多糖对鳗免疫活性的比较[J]. 华中农业大学学报, 1999, **10**: 469-471.
- [18] Matsuyama Y H, Mangindaan R E P. Polysaccharide-induced protection of carp, *Cyprinus carpio* against bacterial infection[J]. **J Fish Dis**, 1991, **14**: 577-582.
- [19] 鄢庆彬, 苏永全, 王军, 等. 溶藻弧菌脂多糖对大黄鱼的毒性与免疫保护性试验[J]. 台湾海峡, 2003, **22**: 163-167.

Toxicity and immunogenicity of LPS from pathogenic *Vibrio alginolyticus* to grouper, *Epinephelus malabaricus*

XU Xian-dong, XIE Zhen-yu, WANG Shi-feng, XUAN Xiong-zhi, ZHOU Yong-can

(Key Laboratory of Tropical Aquatic Biotechnology of Hainan Province; College of Marine Science, Hainan University, Haikou 570228, China)

Received: Apr., 20, 2009

Key words: *Vibrio alginolyticus*; lipopolysaccharides; toxicity; immunogenicity

Abstract: In order to study the toxicity and immunogenicity of the LPS from pathogenic *Vibrio alginolyticus* to *Epinephelus malabaricus*, the crude LPS was extracted by hot phenol-water extraction, and was intraperitoneally injected to healthy groupers at different concentrations. It was found that crude LPSs from both the pathogenic strain and the weak pathogenic strain of *V. alginolyticus* were highly toxic to groupers. The immunogenicity of the crude LPS from *V. alginolyticus* to the groupers was enhanced at elevated concentrations of LPS. The immunogenicity of high purity LPS from *E.coli* to the groupers was better than the crude LPS from *V. alginolyticus*.

(本文编辑: 康亦兼)