

# 中国对虾血淋巴蛋白质、 葡萄糖含量的研究\*

罗 日 祥

(中国科学院海洋研究所, 青岛 266071)

**提要** 于1992—1993年5月和10月,在胶州湾捕捞中国对虾亲虾,9月在莱州和胶南采集的人工养殖中国对虾,采用双缩脲法测定其血淋巴中的血清总蛋白含量,用O-TB法测定血清葡萄糖含量,并研究注射灭菌海水、海洋弧菌后,对中国对虾血清总蛋白含量和血清葡萄糖含量的影响规律。结果表明,总蛋白含量秋天正在发育期的亲虾为132 mg/ml,春天已产卵亲虾的为90 mg/ml;向中国对虾腹部肌肉分别注射灭菌海水、弧菌在24,48h后,从(表面未发现异常变化的)中国对虾围心腔抽取血淋巴,测定其血清蛋白含量和葡萄糖含量,未发现明显差异。但已感染黑斑病的中国对虾,其血清蛋白含量为54 mg/ml,血清葡萄糖含量为641  $\mu$ g/ml,说明感染黑斑病的虾,血清蛋白含量明显减少,而葡萄糖的含量急剧增大:这可以作为中国对虾感染黑斑病的一种血液化学监测指标。

**关键词** 中国对虾 血淋巴 血清蛋白 血清葡萄糖 黑斑病

对虾血淋巴中的蛋白质和葡萄糖,是血淋巴的主要化学物质,它们含量的变化与机体的生理活动密切相关。由于对虾个体小,血液化学方面的工作较为难做,因此这方面的工作甚少(Rodriguez, 1981; Abdel-Rahman et al., 1979)。本研究对中国对虾在感染病菌后血淋巴中的血清蛋白和葡萄糖含量变化进行研究,以探索病菌入侵虾体时血淋巴化学物质的反应与无脊椎动物免疫的关系。

## 1 实验材料与方法

### 1.1 材料

于1992—1993年5月和10月在胶州湾海捕中国对虾(*Penaeus chinensis*),及9月在莱州和胶南采集养殖虾。海捕虾体长为14—18cm,养殖虾体长为11—13cm。取回的虾暂养于110×70×70cm<sup>3</sup>的玻璃钢水槽中,流动海水,连续通气,每天投喂蛤子两次。

弧菌(*Vibrio* sp.)用前临时培养。用灭菌海水配成悬浮液,浓度约10<sup>8</sup>cell/ml。注射用的海水经高温灭菌后待用。

### 1.2 样品制备

中国对虾暂养一周待生理状态稳定后,挑选30条大小均匀、健康的虾分三组,分别养于三个玻璃钢水槽内,每缸10条,流动海水,连续通气。第一组为对照组,第二组从腹部注射0.05ml灭菌海水,第三组从腹部注射弧菌悬浮液0.05ml在24, 48, 72h 分别

\* 国家自然科学基金资助项目, 39270542号。罗日祥,男,出生于1938年7月,副研究员。

收稿日期:1995年6月12日,接受日期:1996年3月14日。

用注射器从围心腔抽取血淋巴 0.5—1ml, 在 4℃ 冰箱中放置 1.5—2h, 然后以 3000r/min 离心 15min, 取出上层血淋巴液放入小试管里, 存放于 -20℃ 水箱内待分析用。

### 1.3 测定方法

总蛋白含量的测定采用双缩脲法(北京大学生物系生化教研室, 1964), 葡萄糖的测定采用 O-TB 法(中山大学生物系生化微生物学教研室, 1979)。

## 2 实验结果与讨论

### 2.1 亲虾血清蛋白和葡萄糖含量

秋天正处在性腺发育期亲虾与春天已产卵亲虾血淋巴的血清总蛋白含量的测定结果见表 1。可看出, 性腺发育期亲虾血清总蛋白含量要比已产过卵亲虾的高。经  $t$  检验, 以 10, 20  $\mu\text{l}$  的血清量测定结果计算的  $t$  值为 24.041; 以 50  $\mu\text{l}$  的血清量测定结果计算的  $t$  值为 15.598; 它们均大于  $t_{0.01}=9.925$ , 即  $P<0.01$ 。所以秋天发育的亲虾血清总蛋白含量与春天已产过卵亲虾的血清总蛋白含量有非常显著差异。这结果说明, 性腺发育对蛋白的需求量较大, 而产卵亲虾在产卵过程消耗掉体内大量的蛋白质, 致使血淋巴液中的蛋白含量下降, 但这属正常的生殖生理变化。测定血清的用量, 我们认为以 50  $\mu\text{l}$  较适宜。

表 1 性腺发育期亲虾与已产卵亲虾血清总蛋白含量(mg/ml)

Tab.1 Total serum protein contents in the haemolymph of mature and spawned *P. chinensis*

实验号	1	2	平均	3	4	平均
血清用量( $\mu\text{l}$ )	10	20		50	50	
性腺发育期亲虾	140	140	140 $\pm$ 0	126	123	124.5 $\pm$ 1.5
已产卵亲虾	100	95	97.5 $\pm$ 2.5	79	86	82.5 $\pm$ 3.5

### 2.2 注射灭菌海水、弧菌对血清总蛋白含量的影响

肌肉注射灭菌海水与注射弧菌悬浮液的虾血清总蛋白含量的结果见表 2。经  $t$  检验, 计算出 24, 48, 72h 的  $t$  值分别为 1.280, 0.563, 0.858, 它们均小于  $t_{0.1}^2=2.920$  和  $t_{0.1}^{(3)}=2.353$ , 即  $P>0.1$ ; 所以注射灭菌海水与注射弧菌 (10<sup>8</sup>cell/ml) 悬浮液 0.05ml 时, 血清总蛋白含量的差异不显著。在实验过程中, 从外表观察, 中国对虾也无异常变化。这证明, 向体长为 11—18cm 的中国对虾体内注射 0.05ml 的弧菌悬浮液时, 在不出现外观病的条件下, 不会引起血清总蛋白含量的变化。实验发现, 不管是采自外海的中国对虾还是养殖虾, 只要取样测定前一星期投喂的饵料一样, 测定的血清蛋白含量也基本一致。

### 2.3 注射无菌海水、弧菌对血清葡萄糖的影响

注射无菌海水、弧菌后, 中国对虾不同时间内血清葡萄糖的含量变化见表 3。经  $t$  检验, 注射无菌海水或弧菌 24h 的  $t$  值分别为 1.224, 0.230, 它们均小于  $t_{0.10}=2.920$ , 即  $P>0.10$ ; 所以它们均无明显差异。注射无菌海水、弧菌 48h, 其  $t$  值分别为 2.000, 1.868, 它们均小于  $t_{0.1}=2.920$ ; 所以它们也无明显差异。Riegel (1960) 在一种淡水 (龙) 虾上的工作表明, 血液中的葡萄糖是一种高度变化的物质, 紧张现象能使无脊椎动物血淋巴中葡萄糖含量急剧上升。在我们实验中, 尽管对各平行组的环境、投饵时间、取样时间等因素作了严格控制, 但各次测得的数据还是有较大的波动。这可能是虾本身生理状态的差异或某些不明因子的刺激所致,

更确切的依据有待进一步的研究证明。

表 2 注射无菌海水与注射弧菌( $10^8$ cell/ml)后的血清总蛋白含量(mg/ml)

Tab.2 Total serum protein contents in the haemolymph of *P. chinensis* after injected bacteria-free sea-water and the *Vibrio* sp.

项 目		24h		48h		72h	
		测得含量	平均	测得含量	平均	测得含量	平均
注射 灭菌 海水	$n_1$	106		—		116	
	$n_2$	84	95±11	94	99±5	94	104.67±8.99
	$n_3$	—		104		104	
注射 弧菌	$n_1$	106		96		98	
	$n_2$	104	105±1	94	103.33±11.81	104	100.00±2.83
	$n_3$	—		120		98	

$n$  代表虾尾数; — 示血清样品已用完。(表 3 同)

表 3 注射无菌海水、弧菌后血清葡萄糖的含量( $\mu\text{g/ml}$ )

Tab.3 The serum glucose contents in *P. chinensis* after injected the bacteria-free sea-water and the *Vibrio* sp.

组 别		24h		48h	
		测得含量	平均	测得含量	平均
对 照 组	$n_1$	154	151±3.0	331	290.5±40.5
	$n_2$	148		250	
注 射 灭 菌 海 水	$n_1$	200	173±30.9	169	184.5±15.5
	$n_2$	130		—	
	$n_3$	190		200	
注 射 弧 菌	$n_1$	140	146±9.0	253	265.5±12.5
	$n_2$	160		278	
	$n_3$	140		—	

#### 2.4 不同情况下虾血清蛋白、葡萄糖含量的比较

中国对虾黑斑病虾血清中的蛋白及葡萄糖的含量,与注射无菌海水、弧菌情况下的虾血清蛋白及葡萄糖的含量的比较见表 4。各组蛋白含量变化经  $t$  检验,注射无菌海水、弧菌的  $t$  值分别为 0.082, 0.369, 它们均小于  $t_{0.01}^{(9)}=2.353$ , 即  $P>0.1$ : 所以,注射无菌

海水、弧菌( $10^8$ cell/ml) 0.05ml时, 其血清总蛋白含量无明显变化。黑斑病虾的  $t$  值为 6.619, 它大于  $t_{0.01}^{(3)} = 5.841$ , 即  $P < 0.01$ : 所以, 黑斑病虾血清总蛋白含量同上述两种情况有非常显著的差异。各组葡萄糖含量经  $t$  检验, 注射无菌海水、弧菌的均无明显差异。但黑斑病虾, 经  $t$  检验, 计算出  $t$  值为 14.951, 它大于  $t_{0.01}^{(3)} = 5.841$ : 所以, 黑斑病虾血清葡萄糖含量与上述两种情况有非常显著的差异。这说明, 弧菌入侵的数量若在机体自身的抵抗能力所能及范畴, 不会引起血清蛋白和葡萄糖含量的改变; 只有入侵的弧菌数量超出能及范围并出现病症时, 才会引起血清蛋白含量的下降、血清葡萄糖含量的上升。因此, 用检测中国对虾血清蛋白和葡萄糖含量的办法, 可预告虾病的危害程度, 但具体检测程序还待进一步研究完善。

表 4 不同情况下的虾血清蛋白(mg/ml)、葡萄糖含量( $\mu\text{g/ml}$ )

Tab.4 Serum protein and glucose contents in the haemolymph of *P. chinensis* under several conditions

项 目		对 照		注射灭菌海水		注射弧菌		黑斑病	
蛋白含量	$n_1$	90		100		78		61	
	$n_2$	110	$104 \pm 9.9$	85	$105 \pm 18.7$	115	$100 \pm 15.9$	42	$54 \pm 8.5$
	$n_3$	112		130		107		59	
葡萄糖含量	$n_1$	154		200		140		720	
	$n_2$	148	$151 \pm 3.0$	130	$173 \pm 30.9$	160	$146 \pm 9.0$	590	$641 \pm 56.6$
	$n_3$	—		190		140		613	

### 3 结语

向中国对虾腹部肌肉注射灭菌海水或弧菌( $10^8$  cell/ml) 悬浮液 24,48h 后, 从未出现表观病症虾的围心腔抽取血淋巴, 测定血清蛋白和葡萄糖含量, 结果未发现明显差异, 但从已感染黑斑病的中国对虾围心腔抽血淋巴, 测定其血清蛋白和葡萄糖含量, 有明显差异, 即血清蛋白含量明显下降, 葡萄糖含量急剧增加。这个血液化学明显差异可作为中国对虾黑斑病的监测指标。

### 参 考 文 献

- 中山大学生物系生化微生物学教研室编, 1979, 生化技术导论, 人民出版社(北京), 25—26。  
 北京大学生物系生化教研室编, 1964, 生物化学实验指导, 人民出版社(北京), 56—57。  
 Abdel-Rahman, S. H. et al., 1979, *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 45: 1 491—1 494。  
 Riegel, J. A. 1960, *Nature*, 186: 727—729。  
 Rodriguez, G. A., 1981, *J. Grust. Biol.*, 1: 392—400。

# STUDY ON THE CONTENTS OF SERUM PROTEIN AND GLUCOSE IN THE HAEMOLYMPH OF THE SHRIMP *PENAEUS CHINENSIS*

Luo Rixiang

(Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071)

**Abstract** Wild (captured in May and October) and cultured (collected in September) shrimp *Penaeus chinensis* were used in this study on the total serum protein and total glucose in their haemolymph. The total serum protein was measured by Biuret reaction, and the total serum glucose, by O-TB. The effects on the contents of the above—two biochemicals caused by injection of sterilized seawater and marine *Vibrio* sp. ( $0.05 \times 10^8$  cell /ml) were investigated. The total serum protein was 132mg /ml in the not—spawning adult shrimp collected in autumn; and 90mg /ml in the spawning shrimp collected in spring. No variation of the contents of serum protein and glucose in the haemolymph from the pericardial sinus was observed 24 and 48 hours after intramuscular injection of sterilized seawater and *Vibrio* in the abdomen. The contents of serum protein and glucose were 54mg /ml and 641 $\mu$ g /ml respectively in the shrimps infected by black spot disease. The results showed *P. chinensis* infection by black spot disease is symptomized by obvious decrease of serum protein content accompanied by increase of serum glucose content.

**Key words** *Penaeus chinensis* Haemolymph Serum protein Serum glucose Black spot disease

\*\*\*\*\*

## 《海洋与湖沼》学报历年获奖目录

- 1988 年 山东省科协优秀科技期刊 一等奖
- 1990 年 中国科学院优秀自然科学期刊 二等奖
- 1991 年 山东省科委、山东省新闻出版局、¥山东省科协优秀科技期刊(总分第一名) 一等奖
- 1992 年 中国科学院优秀科技期刊 二等奖
- 1992 年 中国科协优秀科技期刊 一等奖
- 1992 年 国家科委、中宣部、国家新闻出版总署优秀科技期刊 二等奖
- 1993 年 华东区优秀科技期刊 一等奖