中华鳖非特异性免疫功能的群体差异研究

刘至治 蔡完其 付立霞 黄玲
(农业部水产种质资源与养殖生态重点开放实验室; 上海水产大学, 上海 200090)

摘要: 从补体总量、红细胞 C_3b 受体花环率、红细胞天然免疫肿瘤细胞花环率、T 淋巴细胞活性 E 花环率及白细胞吞噬活性五方面, 探讨了黄河鳖、淮河鳖、洞庭湖鳖、鄱阳湖鳖及太湖鳖在非特异性免疫功能上的差异。主要结果: (1) 在补体总量及红细胞天然免疫肿瘤细胞花环率上, 五群体之间差异不显著($F < 0.05$); (2) 在红细胞 C_3b 受体花环率上, 黄河鳖显著地高于鄱阳湖鳖与太湖鳖($P < 0.05$), 而其余群体间则差异不显著($F < 0.05$), 花环率大小顺序为: 黄河鳖> 淮河鳖> 洞庭湖鳖> 鄱阳湖鳖> 太湖鳖; (3) 在 T 淋巴细胞活性 E 花环率上, 黄河鳖显著高于鄱阳湖鳖($P < 0.05$), 太湖鳖极显著地低于其他四个群体($F > 0.01$), 其余群体间则差异不显著($P > 0.05$), 花环率大小顺序为: 黄河鳖> 淮河鳖> 洞庭湖鳖> 鄱阳湖鳖> 太湖鳖; (4) 在白细胞吞噬活性上, 除淮河鳖与鄱阳湖鳖差异不显著外($P > 0.05$), 其余群体间则差异极显著($F > 0.01$), 活性大小顺序为: 黄河鳖> 洞庭湖鳖> 淮河鳖> 鄱阳湖鳖> 太湖鳖。综上所述, 在非特异性免疫功能上, 黄河鳖最强, 太湖鳖较弱。

关键词: 中华鳖; 黄河鳖; 淮河鳖; 洞庭湖鳖; 鄱阳湖鳖; 太湖鳖; 非特异性免疫
中图分类号: S947.1 文献标识码: A 文章编号: 1000-3207 (2004) 04-0349-07

中华鳖(*Trionyx sinensis* Viegmann) 营养丰富, 味道鲜美。20 世纪 90 年代以来, 养鳖业飞速发展, 产量剧增, 从 1993 年 4424t[1], 到 2001 年达 11 万 t。中华鳖产量增长过快而造成的短期内供过于求, 加之因中华鳖养殖生产的质量意识、品牌意识淡薄, 产品品质信誉不高等原因, 使鳖作为保健食品的形象遭受损害, 造成中华鳖价格持续下跌, 养鳖业经济效益严重滑坡。鳖在自然条件下, 对疾病的抵抗力很强, 但随着集约控温养殖技术的实行, 病害逐年趋于频繁而严重[1]。非特异性免疫是机体防御反应的第一道防线, 对于中华鳖抵御疾病的侵袭显得尤为重要。以往对于中华鳖免疫功能的研究报道不多[2—5, 21]。蔡完其等的研究表明, 中华鳖太湖群体的非特异牲免疫功能要强于台湾群体[15], 提示进行中华鳖不同群体间非特异性免疫功能的比较研究, 可为筛选抗病力较强的鳖种提供理论指导。本文报道了我国代表性中华鳖群体间非特异性免疫功能差异的研究结果。

1 材料与方法

1.1 中华鳖的采集 在长江、淮河、黄河三流域采集代表性群体, 产地均经过实地调查选定, 为原种的 F_1 代。长江流域的从其中、下游的洞庭湖、鄱阳湖、太湖采集(以下分别简称为洞庭湖鳖、鄱阳湖鳖、太湖鳖); 黄河流域的从其河口地区采集(以下简称为黄河鳖); 淮河流域的从其中游的蚌埠采集(以下简称为淮河鳖)。黄河鳖来自山东广绕中华鳖养殖场, 淮河鳖来自安徽蚌埠省级中华鳖良种场, 洞庭湖鳖来自湖南长沙国家级中华鳖原种场, 鄱阳湖鳖来自江西鄱阳湖省级中华鳖良种场, 太湖鳖来自浙江嘉善中华鳖养殖场。

具体做法是: 从产地采集鳖蛋, 集中于上海市崇明东风养鳖场孵化, 并于 2000.7—2001.7 在该场的同一温室内进行稚鳖到成鳖阶段的生长试验。选择面积一致($12m^2$)、水深一致(早期 0.15m, 后期 0.35m, 逐步加深)、温度稳定($30°C \pm 1°C$) 的鳖池, 采用随机完全区组设计, 每群体 4 个重复, 进行养殖性

收稿日期: 2003-01-06; 修订日期: 2003-03-02
基金项目: 上海市水产办"中华鳖养殖业持续发展研究"项目(科 0095) 资助
作者简介: 刘至治(1972—), 男, 湖南新宁县人; 博士生; 研究方向: 水产动物医学。Tel: 021-65710348, E-mail: footballloverlzz@sohu.com
通讯作者: 蔡完其, 女, 浙江鄞县人; 教授, 博士生导师; 主要从事水产动物病理与抗逆育种的研究 Tel: 021-65710062, E-mail: lsf038@mail.online.sh.cn

能的观测试验。每池各放稚鳖240只。折合20只/m^2。保持温室内水温稳定。使用大地牌中华鳖专用饲料。所有试验鳖池的饲养管理由一人专职负责,以保持各池的投饲等一致。2001年7月9—10日成鳖出池时,各群体随机取健康鳖32只,体重为350—550g/只。做白细胞吞噬和红细胞天然免疫肿瘤细胞花环试验时,各群体取16只鳖,而做T淋巴细胞活性E花环试验和红细胞C_3b受体花环试验时用另外16只鳖。

1.2 菌种 嗜水气单胞菌(*Aeromonas hydrophila*),由本实验室提供;致敏酵母、肿瘤细胞(S180,艾氏腹水癌细胞)购自第二军医大学长海医院血站;–20℃保存。

1.3 血清制备及补体总量测定 将鳖断头取血,滴于离心管中,室温静置2h,3000r/min离心20min,取血清,–20℃保存。测定时,每群体随机取10只鳖的血清,测定方法为50%溶血试验。即CH50(50% complement hemolysis)[6]。采用HITACHI 7020型自动检测仪进行测定,试剂为与仪器配套的试剂盒,在上海市新华医院免疫室进行测定。

1.4 白细胞吞噬活性试验 参照蔡完其等的方法[7—9]。

1.5 **T**淋巴细胞活性**E**花环试验 参照文献的方法操作[10,11]。

淋巴细胞悬液制备:取鳖血1—2mL于肝素处理过的离心管中,摇匀,接着加入等量的Hanks液稀释,摇匀。在另一只离心管中加入1mL淋巴细胞分离液,将稀释后的鳖血2mL沿着管壁缓缓加入淋巴细胞分离液中,水平离心(3000r/min,15min)后,吸取淋巴细胞层,以5倍体积的Hanks液洗涤(1500r/min,10min)两次,显微计数,以Hanks液配成3×10^6个/mL的淋巴细胞悬液。

SRBC悬液制备:取绵羊红细胞(SRBC)(以阿氏液保存,SRBC:阿氏液=1∶2),以Hanks液洗涤(1500r/min,10min)3次,配成6×10^7个/mL的SRBC悬液。

玻片制备:取淋巴细胞和SRBC悬液各100μL、小牛血清50μL,单相摇匀,立即离心(500r/min,5min),单相摇匀,使沉下的细胞重新混匀,加100μL 0.25%戊二醛4℃固定15min。单相摇匀,涂片(每只鳖3片),风干,甲醇固定3min,瑞氏染色液染色5min。

镜检,计数:在高倍镜下(400倍),全片记数,计算形成T淋巴细胞活性E花环的百分率(以一个T淋巴细胞粘附2个或2个以上的SRBC为一个花环)。

1.6 红细胞**C_3b**受体花环试验 参照郭峰、蔡完其等的方法操作[12,13]。

1.7 红细胞天然免疫粘附肿瘤细胞花环试验 参照文献的方法进行[6,13]。

1.8 拍照和数据处理 用Smart scape 2000生物显微图像分析软件(400倍镜下)进行显微摄影,用SPSS10.0(Statistical Package for Social Sciences)统计软件[14]中的方差分析(ANOVA)和均值多重比较分析法(LSD法),对五群体中华鳖非特异性免疫的各项测定指标进行分析。

2 结果

2.1 群体间补体总量差异

五群体中华鳖补体总量的测定结果见表1。黄河鳖和淮河鳖的补体总量较高,分别为12.04±3.14单位/mL和12.05±2.17单位/mL,而长江流域的洞庭湖鳖、鄱阳湖鳖及太湖鳖,则补体总量较低,在10.0单位/mL上下。经方差分析,各群体间补体总量的差异不显著($F=1.175<F_{0.05;4,35}=2.65$)。

2.2 红细胞**C_3b**受体花环百分率及红细胞的吞噬现象

五群体中华鳖的红细胞均能与致敏酵母形成C_3b受体花环(图1),花环百分率的大小顺序为:黄河鳖>淮河鳖>洞庭湖鳖>鄱阳湖鳖>太湖鳖(表1)。方差分析表明,各群体间红细胞C_3b受体花环率差异不显著($F=2.00<F_{0.05;4,75}=2.51$),但均值多重比较后发现,黄河鳖的红细胞$C_3b$受体花环率显著高于鄱阳湖鳖和太湖鳖($P<0.05$)。



图1 中华鳖红细胞粘附致敏酵母形成花环(×400)

Fig. 1 The erythrocyte C_3b receptor rosettes of the five populations of soft-shelled turtle (×400)

表1　黄河鳖、淮河鳖、洞庭湖鳖、鄱阳湖鳖及太湖鳖非特异性免疫功能比较(均值±标准差)

Tab. 1　Comparison on the functions of nonspecific immunity among populations of soft-shelled turtle fromYellow River, Huai River, Dongting Lake, Poyang Lake and Taihu Lake (Mean±SD)

	黄河鳖 Yellow R.	淮河鳖 Huai R.	洞庭湖鳖 Dongting L.	鄱阳湖鳖 Poyang L.	太湖鳖 Taihu L.
补体总量 Total amount of complement, u/mL(n=10)	12.04±3.14	12.05±2.17	9.96±2.20	10.61±2.77	10.81±3.04
红细胞 C_3b 受体花环率 Erythrocyte C_3b receptor rosette, %(n=16)	17.91[a]±2.5	16.93[ab]±4.12	16.75[ab]±2.88	15.26[b]±3.1	15.02[b]±4.2
T 淋巴细胞活性 E 花环率 Erythrocyte active rosette of T lymphocyte, %(n=11)	15.35[a]±2.53	14.19[ab]±2.17	13.53[ab]±1.93	13.09[bc]±2.61	9.91[d]±1.50
红细胞自然粘附肿瘤细胞花环率 Erythrocyte native immune adhering tumor cell, %(n=16)	8.26±2.10	7.83±2.04	7.59±2.29	7.41±1.64	7.14±1.51
白细胞吞噬率 Phagocyte rate of leukocyte, %(n=16)	41.89[a]±3.55	36.49[b]±2.13	39.76[c]±1.43	36.12[b]±1.28	32.48[d]±1.70

注: 1) 在试验过程中, 由于发生溶血现象, 故每群体只有11只鳖用于T 淋巴细胞活性E 花环的试验。2) 上标中的小写字母不同, 表示群体间有显著差异($P<0.05$)。

Notes: 1) Because of hematolysis, there were only 11 samples for each population in the experiment of erythrocyte active rosette of T lymphocyte. 2) Different superscripts indicate significant differences among populations($P<0.05$).

在记数观察过程中, 发现五群体中华鳖的红细胞均能够吞噬酵母细胞, 但吞噬率不高, 在0.5% —1.5%之间。吞噬的具体过程为: (a) 当红细胞靠近酵母细胞时, 首先伸出细长的触手, 牵引它们接近; (b) 然后伪足由细变粗、由长变短, 并继续牵拉酵母细胞; (c) 当酵母细胞靠近红细胞后, 红细胞自身形状发生变化, 胞浆膜向核的方向下陷, 将酵母细胞慢慢吞噬到细胞内(图2, a, b, c)。

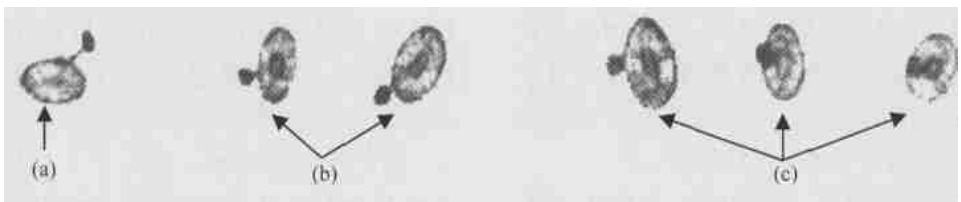


图2　中华鳖红细胞吞噬致敏酵母现象(×400)

Fig. 2　Phagocytic phenomena of erythrocyte from five populations of soft-shelled turtle (×400)

2.3　T 淋巴细胞活性 E 花环率

五群体中华鳖的T 淋巴细胞均能与绵羊红细胞形成活性E 花环(图3, a)。花环率的大小顺序与红细胞 C_3b 受体花环率一样, 即黄河鳖> 淮河鳖> 洞庭湖鳖> 鄱阳湖鳖> 太湖鳖。方差分析表明, 各群体间T 淋巴细胞活性E 花环率差异极显著($F=9.52>F_{0.01;4,50}=3.74$)。均值多重比较进一步分析表明, 黄河鳖与鄱阳湖鳖之间差异显著($P<0.05$), 太湖鳖极显著地低于其他四个群体($P<0.01$), 而黄河鳖、淮河鳖、洞庭湖鳖三群体间及淮河鳖、洞庭湖鳖、鄱阳湖鳖三群体间的差异却不显著($P>0.05$)。



图3　(a) 中华鳖T 淋巴细胞粘附绵羊红细胞形成花环(×400); (b) 中华鳖红细胞天然免疫粘附肿瘤细胞形成的花环(×400)

Fig. 3　(a) The active rosettes (EaR) of T lymphocyte of the five populations of soft-shelled turtle (×400)　(b) The rosettes of erythrocyte native immune adhering tumor cells of the five populations of soft-shelled turtle(×400)

2.4 红细胞天然免疫粘附肿瘤细胞花环率

五群体中华鳖的红细胞均能粘附肿瘤细胞形成花环(图3, b), 花环百分率的大小顺序与红细胞 C_3b 受体花环率一样, 即黄河鳖> 淮河鳖> 洞庭湖鳖> 鄱阳湖鳖> 太湖鳖(表1), 但五群体间的红细胞自然粘附肿瘤细胞花环率的差异不显著($F = 0.79 < F_{0.05;4,75} = 2.51$)。

2.5 白细胞吞噬活性

五群体中华鳖的白细胞(嗜中性)均吞噬嗜水气单胞菌, 吞噬百分率见表1, 大小顺序为: 黄河鳖> 洞庭湖鳖> 淮河鳖> 鄱阳湖鳖> 太湖鳖。方差分析表明, 各群体间白细胞吞噬率差异极显著($F = 44.17 > F_{0.01;4,75} = 3.61$), 但均值多重比较后发现, 淮河鳖与鄱阳湖鳖之间差异却不显著($P > 0.05$)。

3 讨论

3.1 中华鳖非特异性免疫功能的群体差异

3.1.1 补体活性 补体是动物血清中的一组具有酶活性的球蛋白, 没有特异性, 具有溶菌、灭活病毒、溶解细胞、免疫粘连、调理吞噬和趋化等作用, 对机体自身稳定和抗感染免疫具有重要意义。本试验中, 五群体中华鳖在补体总量上的差异虽不显著($F = 1.175 < F_{0.05;4,35} = 2.65$), 但黄河鳖和淮河鳖的补体总量平均要比长江流域的洞庭湖鳖、鄱阳湖鳖和太湖鳖高出1.2—2.0单位/mL左右, 说明前者的补体活性较高。蔡完其等对太湖鳖、台湾鳖的补体总量进行了测定, 结果表明二者之间的差异也不显著, 且含量十分接近, 仅相差0.02单位/mL[15]。

以往的研究表明, 鲫鱼、鲤鱼和"四大家鱼"的补体总量的范围在2—7单位/mL[8—9], 大熊猫的补体总量为37.4单位/mL[16], 而人的补体总量为80—160单位/mL[10]。本试验测得五群体中华鳖的补体总量在10—12单位/mL。由此可认为, 随着动物进化程度的提高, 补体活性也相应加强, 即鱼类< 中华鳖< 大熊猫< 人。

3.1.2 红细胞免疫功能 Siegel等的研究表明, 红细胞除具有携氧、运输气体等功能外, 还具有重要的免疫功能, 且红细胞免疫系统概念至少适用于哺乳动物, 而非灵长类独有[17]。20世纪90年代以来, 中国学者在鱼类红细胞免疫方面进行了不少的研究, 证实了鱼类的红细胞同样具有免疫功能, 且这种功能存在种间、种群间及群体间的差异; 此外, 鱼类的红细胞还具有吞噬功能[7—9, 13, 15, 17—18]。通过红细胞 C_3b 花环试验和红细胞天然免疫粘附肿瘤细胞试验, 对中华鳖五群体的红细胞免疫功能进行了比较研究, 发现中华鳖的红细胞均能粘附致敏酵母和肿瘤细胞形成花环, 花环百分率的大小顺序一致, 即: 黄河鳖> 淮河鳖> 洞庭湖鳖> 鄱阳湖鳖> 太湖鳖。方差分析和均值多重比较的结果表明, 黄河鳖的红细胞 C_3b 受体花环率要显著地高于鄱阳湖鳖和太湖鳖($P < 0.05$), 而其他群体间则差异不大($F = 2.00 < F_{0.05;4,75} = 2.51$)。由表1可知, 黄河鳖的红细胞 C_3b 受体花环率分别要比鄱阳湖鳖、太湖鳖平均高出17.37%和19.24%。而太湖鳖与台湾鳖的红细胞 C_3b 受体花环率差异也不显著, 前者只比后者高出11.9%[15]。中华鳖的红细胞粘附肿瘤细胞的能力在五群体间的差异虽不显著($F = 0.79 < F_{0.05;4,75} = 2.51$)但黄河鳖仍然要比鄱阳湖鳖和太湖鳖平均高出11.61%和15.69%。由此可以认为, 中华鳖的红细胞免疫功能存在种群间的差异, 黄河鳖最强, 淮河鳖与洞庭湖鳖稍弱, 鄱阳湖鳖与太湖鳖较弱。

此外, 在研究过程中发现中华鳖的红细胞存在吞噬致敏酵母的现象, 这可能是因为中华鳖的进化程度不高, 红细胞有细胞核并保留了部分类似白细胞的吞噬功能。蔡完其、王旭东等也有类似的报道[13, 18]。这进一步说明了红细胞免疫在中华鳖非特异性免疫防御中占有较为重要的地位。

3.1.3 **T**淋巴细胞活性**E**花环率 T淋巴细胞活性E花环试验能敏感地反映机体T淋巴细胞的功能状态[10]。通过测定, 发现中华鳖五群体的T淋巴细胞活性E花环百分率平均在9.9%—15.4%, 低于人、畜及禽类的15%—35%[19]。这是作为爬行动物的中华鳖与人及其他高等动物之间进化上的差距在T淋巴细胞功能上的反映。本研究发现, 在T淋巴细胞活性E花环百分率上, 黄河鳖显著地高于鄱阳湖鳖($P < 0.05$), 太湖鳖极显著地低于其他四个群体($F = 9.52 > F_{0.01;4,50} = 3.74$)。而其他群体间则差异不大($P > 0.05$)。黄河鳖的T淋巴细胞活性E花环百分率平均比鄱阳湖鳖、太湖鳖分别高出17.27%和54.89%; 淮河鳖、洞庭湖鳖和鄱阳湖鳖则分别比太湖鳖高出43.19%、36.53%、32.09%(表1)。可见, 在T淋巴细胞的功能上, 黄河鳖最强; 淮河鳖、洞庭湖鳖较黄河鳖弱, 比鄱阳湖鳖稍强; 太湖鳖最弱。而太湖鳖的T淋巴细胞功能要比台湾鳖稍强[15]。

3.1.4 白细胞的吞噬活性 白细胞吞噬是鳖的非特异性免疫的重要组成部分, 它具有吞噬和消灭病原微生物的作用。嗜水气单胞菌在各养鳖场水体中

普遍存在, 是导致穿孔、烂颈、烂脚、红脖子及赤斑等症状的主要病原[15], 因此, 在相同条件下了解不同群体中华鳖的白细胞对嗜水气单胞菌吞噬能力的强弱, 有助于了解它们的抗感染能力, 为选育抗病力强的鳖种提供指导。研究表明, 除淮河鳖与鄱阳湖鳖的白细胞对嗜水气单胞菌的吞噬百分率差异不显著外($P > 0.05$), 其他群体间差异极显著($F = 44.17 > F_{0.01;4,75} = 3.61$)。由表1可知, 黄河鳖最强, 平均要比洞庭湖鳖、淮河鳖、鄱阳湖鳖及太湖鳖分别高出5.36%、14.80%、15.97%和28.97%; 洞庭湖鳖虽较黄河鳖低, 却极显著地高于淮河鳖、鄱阳湖鳖及太湖鳖(分别高出8.96%、10.08%和22.41%)。而太湖鳖的白细胞吞噬活性显著地高于台湾鳖[15]。由此推测, 在受到嗜水气单胞菌感染时, 黄河鳖、洞庭湖鳖的抵抗力最强, 太湖鳖和台湾鳖则易感性较强, 可能较容易患病。

3.2　从非特异性免疫功能看不同群体中华鳖的种质

非特异性免疫是生物在进化过程中逐步形成的, 是对病原体的天然抵抗力。对于中华鳖来说, 因其进化程度不高, 故非特异性免疫能力在其抵抗生存环境中的各种病原体中起着十分重要的作用。不同群体的中华鳖由于其生活环境的差异, 在长期与自然界多种多样的病原体斗争的过程中, 形成的免疫力可能会有差异并经逐代的积累而遗传下来。本试验的五群体中华鳖, 是从五个不同原产地收集鳖蛋并集中孵化后, 在同一栋温室中养成的, 可以排除环境条件对它们非特异性免疫能力的影响, 因此, 五群体中华鳖非特异性免疫能力的差异可能是由遗传造成的。

在本文所研究的五个方面, 五群体中华鳖非特异性免疫功能的差异主要表现为: (1) 在红细胞C3b受体花环率上, 黄河鳖显著地高于鄱阳湖鳖和太湖鳖; 在T淋巴细胞活性E花环率上, 它显著地高于鄱阳湖鳖、极显著地高于太湖鳖; 在白细胞对嗜水气单胞菌的吞噬能力上, 它极显著地强于洞庭湖鳖、淮河鳖、鄱阳湖鳖和太湖鳖; (2) 在T淋巴细胞活性E花环率上, 淮河鳖、洞庭湖鳖与鄱阳湖鳖三者之间差异不大, 却极显著地高于太湖鳖, 在白细胞对嗜水气单胞菌的吞噬能力上, 洞庭湖鳖要极显著地高于淮河鳖、鄱阳湖鳖, 淮河鳖与鄱阳湖鳖差异虽不大却极显著地高于太湖鳖; (3) 在补体总量及红细胞粘附肿瘤细胞花环率方面, 五群体中华鳖之间的差异虽不显著, 但太湖鳖在相应的数值上是最低的, 从而显示了一定的差异性。蔡完其等的研究表明, 太湖鳖的非特异性免疫功能要强于台湾鳖[15]。综上所述, 从非特异性免疫的角度看, 黄河鳖要明显地优于其他群体, 其次为洞庭湖鳖和淮河鳖, 鄱阳湖鳖稍弱, 太湖鳖和台湾鳖则较差。类似地, 蔡完其等报道了中华鳖群体间在稚鳖到成鳖阶段生长性能的差异。结果表明, 在生长速度和群体产量上, 各群体间存在显著差异。最佳者为黄河鳖, 淮河鳖、洞庭湖鳖及鄱阳湖鳖也相当好[20]。因此, 单从这两方面看, 黄河鳖是最佳鳖种, 但其资源量较少, 应加以保护。淮河鳖、洞庭湖鳖、鄱阳湖鳖为较佳鳖种。

致谢:　在取材和试验过程中, 本研究室的王成辉博士、邹曙明老师及杨怀宇硕士、轩兴荣硕士提供了许多帮助, 谨致谢忱!

参考文献:

[1] Ding X M. The situations and tactics for soft-shelled turtle aquaculture[J]. *China Fisheries*, 2000, **1**: 12 [丁晓明. 中华鳖养殖业生产形式及对策. 中国水产, 2000, **1**: 12]

[2] Yang X L, Zhou J G, Ai X H, *et al*. Influence of age, size and nutrition of *Trionyx sinensis* on the immune response[J]. *Journal of Fisheries of China*, 1999, **23**(4): 375—379. [杨先乐, 周剑光, 艾晓辉, 等. 鳖的体重、年龄及营养状况对中华鳖免疫应答的影响. 水产学报, 1999, **23**(4): 375—379]

[3] Yang X L, Zhou J G, Cai W Q, *et al*. The anamnestic response of *Trionyx sinensis* immuninized with bacterin T3[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2000, **24**(2): 156—160. [杨先乐, 周剑光, 蔡完其, 等. 中华鳖T3菌苗抗原的免疫应答. 水产学报, 2000, **24**(2): 156—160]

[4] Guo Q L. The microstructure, ultrastructure and the function of spleen in Chinese soft—shelled turtle, *Trionyx sinensis*[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 1998, **22**(Suppl.): 26—32. [郭琼林. 中华鳖脾脏的显微和亚显微结构及其功能意义. 水生生物学报, 1998, **22**(增刊): 26—32]

[5] Guo Q L. Identification of an interleukin-2 substance in splenocyte culture supernatant of Grass carp, *Ctenopharyngodon idellus* and Chinese soft-shelled turtle, *Trionyx sinensis* [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2001, **25**(1): 21—27. [郭琼林. 草鱼、中华鳖脾脏细胞培养上清液IL-2物质的检测. 水生生物学报, 2001, **25** (1): 21—27]

[6] Sheng G X, Zhou R L. Modern Immunology Experimental Technology[M]. Hu Bei Science and Technology Press, 2002, 301—303, 429—430. [沈关心, 周汝麟. 现代免疫学实验技术. 武汉: 湖北科学技术出版社, 2002, 301—303, 429—430]

[7] Cai W Q, Sun P F. Resistance of three strains of crucian carps to the outbreak fish disease [J]. *Journal of Fisheries of China.*, 1993, **17**(4): 44—51. [蔡完其, 孙佩芳. 三种鲫鱼对暴发性鱼病的抗病力. 水产学报, 1993, **17**(4): 44—51]

[8] Cai W Q, Sun P F. Within species Variation of resistance of common

carps in the case of outbreak-fish disease[J]. *Journal of Fisheries of China*, 1994, **18**(4): 290—295. [蔡完其, 孙佩芳. 三种鲤鱼对暴发性鱼病抗病力的差异. 水产学报, 1994, **18**(4): 290—295]

[9] Cai W Q, Sun P F. Among-species variation of resistance of grass carp, black carp, bighead carp and silver carp to the outbreak-fish disease[J]. *Journal of Fisheries Science of China*, 1995: **2**(2): 71—77. [蔡完其, 孙佩芳. "四大家鱼"对暴发性鱼病的抵抗力的种间差异. 中国水产科学, 1995: **2**(2): 71—77]

[10] Li Z L. Microbiology and the Assaying Technology[M]. Guang zhou: Guang Dong Science and Technology Press, 1993, 68—69, 536—539. [李振林. 微生物学及其检验技术. 广州: 广东科技出版社. 1993, 68—69, 536—539]

[11] Du N X. Veterinary Immunology[M]. Beijing: Chinese Agriculture Press, 1995, **31**, 59—66, 210—213. [杜念兴. 兽医免疫学. 北京: 中国农业出版社. 1995, **31**, 59—66, 210—213]

[12] Guo F, Yu Z Q, Zhao Z P. The preliminary study on erythrocyte immune function [J]. *Journal of Chinese Medicine*, 1982, **62**(12): 715—716. [郭峰, 虞紫茜, 赵中平. 红细胞免疫功能的初步研究. 中华医学杂志, 1982, **62**(12): 715—716]

[13] Cai W Q, Xuan X R. Variations of erythrocyte immune functions in four populations of red common carp[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2003, **10**(2): 133—136. [察完其, 轩兴荣. 红鲤4群体间红细胞免疫功能及其差异[J]. 中国水产科学, 2003, **10**(2): 133—136]

[14] Chen P Y, Huang Z M. SPSS 10.0 for Windows; Practical Guide [M]. Beijing: People's Military Medical Publisher, 2002, 102—107. [陈平雁, 黄浙明. SPSS 10.0 统计软件应用教程. 北京: 人民军医出版社. 2002, 102—107]

[15] Cai W Q, Gong X W, Sun P F. Comparison on the function of non-specificity immunity between Taihu Lake population and Taiwan population of soft-shelled turtle(*Trionyx sinensis*)[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2001, **25**(1): 95—97. [蔡完其, 宫兴文, 孙佩芳. 中华鳖太湖群体和台湾群体非特异性免疫功能比较. 水生生物学报, 2001, **25**(1): 95—97]

[16] Xie Z W, Li S H. Complement activity of GIANT PTNDA[J]. Acta ZooLogica Sinica, 1991, **37**(1): 107—108. [谢秩勋, 李素华. 大熊猫总补体活性初探. 动物学报, 1991, **37**(1): 107—108]

[17] Siegel I., Lin T L., Gleichan, N. The red cell immune system[J]. Lancet, 1981, **2**(8246): 556—559

[18] Wang X D, Rao J R. The discovery and studies of the extension erythrocyte phagocytosis [J]. *Journal of Fisheries of China*, 1996, **20**(1): 72—75. [王旭东, 饶家荣. 红细胞广泛吞噬作用的发现和研究. 水产学报, 1996, **20**(1): 72—75]

[19] Bi A H. Medicine Immunology [M]. Beijing: People's Military Medical Publisher, 1995, 44—59, 312—315. [毕爱华, 医学免疫学. 北京: 人民军医出版社. 1995, 44—59, 312—315]

[20] Cai W Q, Li S F, Liu Z Z, *et al*. Evaluation of aquaculture performance of seven populations of *Trionyx sinensis* from larvae to adult stage[J]. *Journal of Fisheries of China*. 2002, **26**(5): 433—439. [蔡完其, 李思发, 刘至治, 等. 中华鳖七群体稚鳖——成鳖阶段养殖性能评估. 水产学报, 2002, **26**(5): 433—439]

[21] Shen J Y, Zhang Z Y, Qian d, *et al*. Studies on humoral immune response of *Trionyx sinensis* to *Aeromonas sobria* inactived vaccine[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2003, **27**(1): 27—30. [沈锦玉, 张志育, 钱冬, 等. 中华鳖对温和气单胞菌体液免疫应答规律的研究. 水生生物学报, 2003, **27**(1): 27—30]

A STUDY ON THE VARIATION OF NON-SPECIFIC IMMUNE FUNCTIONS AMONG POPULATIONS OF SOFT-SHELLED TURTLE *TRIONYX SINENSIS*

LIU Zhi-Zhi, CAI Warr-Qi, FU Li-Xia, and HUANG Lirr-Lin

(Key laboratory of Aquatic Genetic Resources and Aquacultural Ecosystem, Ministry of Agriculture, Shanghai Fisheries University, Shanghai 200090)

Abstract: The norr-specific immune functions were studied among five populations of soft-shelled turtle from Yellow River, Huai River, Dongting Lake, Poyang Lake and Taihu Lake from five aspects ——1) the total amount of complement, 2) the percentage of erythrocyte C_3b receptor rosette, 3) the percentage of erythrocyte native immune adhering tumor cell rosette, 4) the percentage of erythrocyte active rosette(EaR) of T lymphocyte and 5) the activity of leukocyte phagocyte The major results were: (1) There were no significant difference on the total amount of complement and the percentage of erythrocyte native immune adhering tumor cell rosette among the five populations of soft-shelled turtle ($F < 0.05$). (2) On the percentage of erythrocyte C_3b receptor rosette, Yellow River population was significantly higher than that of Poyang Lake population and Taihu Lake population($P < 0.05$), and there was no significant difference among other populations($F < 0.05$). The order of rosette percentage was Yellow River population> Huai River population> Dongting Lake population> Poyang Lake population> Taihu Lake population. (3) On the percentage of EaR of T lymphocyte, Yellow River population was significantly higher than that of Poyang Lake population($P < 0.05$), Taihu Lake population was highly significantly lower than that of the other four populations($F > 0.01$), there was no significant difference among other populations($P > 0.05$). The order of EaR percentage was Yellow River population> Huai River population> Dongting Lake popuation> Poyang lake population> Taihu Lake population. (4) On the activity of leukocyte phagocyte, there was no significant difference between Huai River population and Poyang Lake population($P > 0.05$), while there was highly significant defference among other populations($F > 0.01$). The order of activity was Yellow River population> Dongting Lake population> Huai River population> Poyang Lake population> Taihu Lake population. From above all, it could be concluded that Yellow River population was the highest one on norr specific immune functions while Taihu Lake population was the lowest one.

Key words: soft-shelled turtle, Yellow River populaiton, Huai River population, Dongting Lake population, Poyang Lake population, Taihu Lake population, norr-specific immunity