

文章编号: 1000- 0615(2002)02- 0143- 06

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

周永灿, 张 本, 陈雪芬, 钱家英

(海南大学农学院, 海南 海口 570228)

摘要: 从海南养殖卵形鲳鲹致病嗜麦芽假单胞菌细胞壁中提取脂多糖, 分别用一次腹腔注射免疫法、加强腹腔注射免疫法和口服法对健康卵形鲳鲹进行免疫接种, 结果表明, 以这 3 种方法接种脂多糖 2~ 12 周, 实验鱼类对嗜麦芽假单胞菌的血清凝集抗体效价及其对嗜麦芽假单胞菌病的抵抗力均有显著提高。此外, 卵形鲳鲹在接种嗜麦芽假单胞菌脂多糖后, 其血液中白细胞的吞噬活性也有明显增加。

关键词: 卵形鲳鲹; 嗜麦芽假单胞菌; 脂多糖; 免疫

中图分类号: S966 文献标识码: A

Preparation of *Pseudomonas maltophilia* lipopolysaccharidae and immunological analysis of the lipopolysaccharide against *Trachinotus ovatus*

ZHOU Yong-can, ZHANG Ben, CHEN Xue-fen, QIAN Jia-ying

(Agricultural College, Hainan University, Haikou 570228, China)

Abstract: The lipopolysaccharide (LPS) was isolated from the cell wall of a bacterial pathogen *Pseudomonas maltophilia* which was separated from *Trachinotus ovatus* cultured in Hainan Province. And then, it was immunized to healthy *Trachinotus ovatus* by the single i. p. injection, double i. p. injection and oral administration, respectively. The results showed that, within 2- 12 weeks after the fish was inoculated with LPS, its agglutinating antibody titers against dead *Pseudomonas maltophilia* and its resistance to the bacterial pathogen *Pseudomonas maltophilia* increased significantly. Moreover, the phagocytic activity of the leucocytes of *Trachinotus ovatus* also increased after it was immunized with LPS prepared from *Pseudomonas maltophilia*.

Key words: *Trachinotus ovatus*; *Pseudomonas maltophilia*; lipopolysaccharide; immunization

卵形鲳鲹(*Trachinotus ovatus*) 为我国南方沿海的常见鱼类, 也是海南等地海水网箱养殖的主要品种, 具有较高的经济价值。近年来, 在海南等地的卵形鲳鲹养殖中, 由嗜麦芽假单胞菌(*Pseudomonas maltophilia*) 引起的重大流行病常常发生, 造成了巨大经济损失^[1]。目前, 对于该病的防治主要为使用抗生素等化学药物, 然而, 由于化学药物存在抗药性、药物残留和污染环境等显著缺陷, 长期使用将产生严重的负面影响, 探索其他更安全有效的防治方法已十分必要^[2- 5]。

收稿日期: 2001-08-02

资助项目: 教育部骨干教师资助计划(Jyb- hn007) 和海南省教育厅基金资助项目(200005)

作者简介: 周永灿(1968-), 男, 江西吉安人, 教授, 从事水产动物病害研究。E-mail: zychu@public.hk.hi.cn

http://www.cnki.net

鱼用疫苗具有安全、卫生、高效的特点,能够有效克服化学药物在鱼病防治中的种种局限,在生产应用中前景广阔^[4,5]。目前,已研究的鱼用疫苗包括灭活疫苗、弱毒疫苗、亚单位疫苗、化学疫苗和基因工程疫苗,其中,灭活疫苗研究最多且应用最广^[2,6]。不过,相关研究表明,在由革兰氏阴性菌制备的灭活疫苗中,能激发机体产生免疫保护作用的主要抗原成分为位于细胞壁上的脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)^[7,8],并且,以化学方法从病菌细胞壁中提取LPS制备的LPS疫苗与灭活疫苗相比,具有接种量小、免疫原性强和副作用小等显著优点^[7-9]。为此,本文利用从海南患病卵形鲳^[10]中分离的致病嗜麦芽假单胞菌制备LPS,并探讨其对嗜麦芽假单胞菌病的免疫效果,为卵形鲳^[10]疾病的预防提供一种安全有效的方法。

1 材料与方法

1.1 实验材料

嗜麦芽假单胞菌:1999年11月从海南振东方公司临高海水养殖基地的患病卵形鲳^[10]体内分离并鉴定的致病菌强毒株^[1],该菌株保存于海南大学水产系。

卵形鲳^[10]由海南振东方公司临高海水养殖基地提供,选择体长为12~15cm,体重60~80g的健康且无患病史的个体。

1.2 实验方法

致病菌的培养与灭活效果检测:致病嗜麦芽假单胞菌用海水营养肉汤在28℃下震荡培养48h,分组加入福尔马林至终浓度分别为0.05%、0.1%、0.2%、0.4%、0.6%和0.8%(v/v),于4℃灭活24h后,分别用海水营养琼脂接种并培养48h,检测各种浓度的福尔马林对该致病菌的灭活效果,确定福尔马林的安全灭活浓度。

致病菌的扩大培养与灭活:以海水营养肉汤对致病嗜麦芽假单胞菌扩大培养48h后,用0.4%的福尔马林灭活24h,3000r·min⁻¹离心30min,收集沉淀(灭活细菌)并以无菌磷酸缓冲液(PBS, pH7.2)冲洗3次,4℃保存备用。

嗜麦芽假单胞菌LPS的提取:参照Westphal等的酚水法^[10],并进行了适当修改,主要过程如下:用等量的蒸馏水将灭活嗜麦芽假单胞菌配成菌悬液;于65℃下加入等量的90%分析纯苯酚抽提10min,降温至15℃后,5000r·min⁻¹离心30min;取水层于4℃蒸馏水透析3d,冷冻干燥后得到LPS。该LPS在接种前以pH7.2的无菌PBS配成浓度为100mg·mL⁻¹,并加热除毒,4℃保存。

LPS的毒性检测:以不同浓度的LPS腹腔注入卵形鲳^[10]在确定0和100%估计致死量后,取1:0.85的比值将实验分为6组,并依以下公式确定其LD₅₀值和LD₅₀的95%平均可信限(L₉₅)^[11]:

$$LD_{50} = \log^{-1} [X_m - i \cdot (\Sigma p - 0.5)]$$

$$L_{95} = LD_{50} \pm 4.5 LD_{50} \cdot i \cdot [(\Sigma p - \Sigma p^2) / (n - 1)]^{1/2}$$

其中, X_m 为死亡率为100%时的对数剂量; i 为相邻对数剂量之差; Σp 为死亡率总和; Σp^2 为死亡率平方和; n 为每组实验动物数,本实验为10。LPS的接种方法为腹腔注射,注射量为每尾0.2mL。死亡率以48h为准。

免疫与采血:选择健康的卵形鲳^[10]每组120尾。第一组每尾腹腔注射10mg·mL⁻¹的LPS 0.2mL;第二组以第一组相同的方法接种1周后,再以同样方法加强接种1次;第三组投喂10mg·(kg·d)⁻¹ LPS的量拌料投喂,连用7d;对照组为每尾腹腔注射无菌PBS 0.2mL。首次接种1周后心脏采血,前6周每周采血1次,第6至第12周每2周采血1次,每组每次采血4尾。每尾鱼采集的血液均分成2份,其中一份用肝素抗凝并用于检测白细胞吞噬活力;另一份以8000r·min⁻¹离心10min制备血清,检测血清凝集抗体效价。

血清凝集抗体效价的测定:采用微量血凝板法,以0.4%福尔马林灭活嗜麦芽假单胞菌为反应抗原进行测定。为便于比较,测定的效价以Log₂值表示^[3]。

免疫保护力测定:在首次接种后的第2、5和10周,每组分别取20尾鱼以 1×10^8 cfu的致病嗜麦芽假单胞菌腹腔注射攻毒,注射量每尾为0.2mL,统计攻毒10d内的养殖成活率,用以下公式计算各组的相对成活率(RPS)^[12]:

$$RPS(\%) = [1 - (\text{免疫组的死亡率} / \text{对照组的死亡率})] \times 100$$

白细胞吞噬活力测定:在无菌凹玻片内滴加2滴肝素抗凝的血液,再加入1滴 1×10^9 cfu的热灭活金黄色葡萄球菌,混匀并置湿润带盖容器内37℃孵育30min后,制成血涂片,甲醇固定,碱性美兰染色,油镜观察计数,用以下公式分别测定第2、4、6、8、10和12周各组的吞噬百分比(PP)和吞噬指数(PI):

$$\text{吞噬百分比}(\%)(PP) = (100 \text{ 个白细胞中吞噬细菌的细胞数} / 100) \times 100$$

$$\text{吞噬指数}(PI) = 100 \text{ 个参与吞噬的白细胞内的细菌总数} / 100$$

统计分析:以 χ^2 测验法或 t 检测法测定免疫组与对照组间的显著性差异。

2 结果

2.1 嗜麦芽假单胞菌福尔马林灭活浓度的确定

在嗜麦芽假单胞菌中加入不同浓度的福尔马林并4℃灭活24h后,用海水营养琼脂接种并培养48h的结果表明:用0.05%和0.1%福尔马林灭活的效果很差,接种培养48h后仍有大量菌落产生;0.2%福尔马林虽能杀死绝大部分活菌,但在接种的琼脂上尚有少量菌落;而0.4%以上的福尔马林能将活菌全部杀死。据此,确定嗜麦芽假单胞菌的福尔马林灭活浓度为0.4%。

2.2 嗜麦芽假单胞菌 LPS 半致死浓度的测定

经预试,嗜麦芽假单胞菌 LPS 对实验卵形鲳鲹的0和100%估计致死量分别为 $80 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 $170 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。以1:0.85的比值分组,各组LPS注射量分别为170、145、123、105、90和76 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。依次注射后,卵形鲳鲹48h内的死亡率分别为100%、90%、60%、30%、20%和0。据此,其LD₅₀和L₉₅分别为:

$$LD_{50} = \log^{-1} [Xm - i \cdot (\Sigma p - 0.5)] = \log^{-1} [2.2577 - 0.0689(3 - 0.5)] = 121 (\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1})$$

$$L_{95} = LD_{50} \pm 4.5 LD_{50} \cdot i \cdot [(\Sigma p - \Sigma p^2) / (n - 1)]^{1/2} = 121 \pm 10.5 (\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1})$$

2.3 不同方法接种嗜麦芽假单胞菌 LPS 的免疫应答效果

以一次腹腔注射免疫、加强腹腔注射免疫和口服免疫等3种方法对卵形鲳鲹接种嗜麦芽假单胞菌LPS后,在1、2、3、4、5、6、8、10和12周分别测定的血清凝集抗体效价见图1。结果表明,本研究所用的三

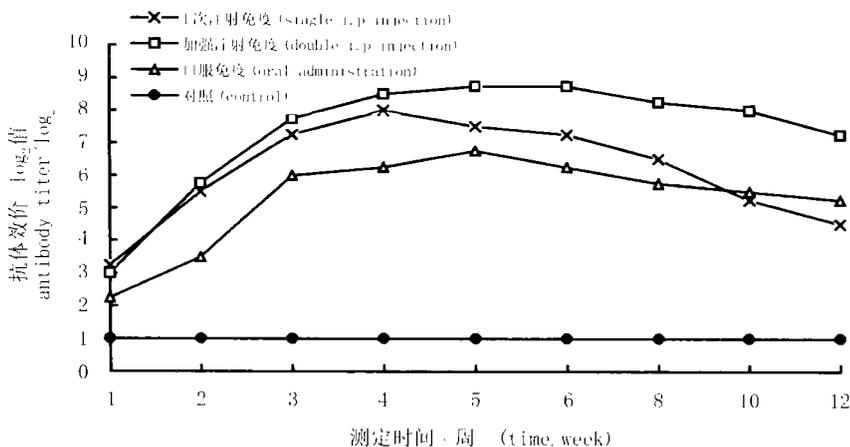


图1 不同方法接种嗜麦芽假单胞菌 LPS 后的血清凝集抗体效价

Fig. 1 Agglutinating antibody titers after innoculating the LPS of *P. maltophilia* by different routes

种接种方法均可获得良好的免疫效果,其中,加强腹腔注射免疫获得的抗体效价最高,高效价持续的时间也最长。1次注射免疫与口服免疫相比,前者激发机体产生抗体的时间较短,获得的最高抗体效价也较高,但口服法在达到高效价后可较长时间地保持效价的稳定,因而在长时间免疫上比1次腹腔注射法更有优势,在本实验中,所有对照组的血清凝集抗体效价都小于4(Log₂值在2以下)。

2.4 嗜麦芽假单胞菌 LPS 的免疫保护效果

以嗜麦芽假单胞菌 LPS 对 12~15cm 卵形鲳鲹接种 2、5 和 10 周后的攻毒结果表明(表 1):被攻毒鱼类的相对成活率(RPS)除第 2 周时的口服组较低外(与其他免疫组差异极显著,但与对照组也有极显著差异),其他各组的 RPS 均在 85% 以上;而相应对照组的成活率则全在 5% 以下,且对照组死亡的实验鱼类也表现出明显的溃疡病症状。说明至少在本研究进行的时间(接种 LPS 后 2~12 周),以嗜麦芽假单胞菌 LPS 接种 12~15cm 卵形鲳鲹可以获得良好的免疫保护效果,有效抵御嗜麦芽假单胞菌引起的溃疡病的发生。

表 1 不同方法接种嗜麦芽假单胞菌 LPS 对卵形鲳鲹相关疾病的保护效果

Tab. 1 Protection effect of the LPS against *P. maltophilia* after inoculating by different routes

免疫方法 vaccination routes	第 2 周攻毒 challenge on the 2nd week		第 5 周攻毒 challenge on the 5th week		第 10 周攻毒 challenge on the 10th week	
	DR ^{*1}	RPS	DR	RPS	DR	RPS
1 次腹腔注射法 single i. p injection	10	90.0 ^{*2*3}	10	90.0 ^{*2}	10	89.5 ^{*2}
加强腹腔注射法 double i. p injection	15	85.0 ^{*2*3}	5	95.0 ^{*2}	0	100.0 ^{*2}
口服法 oral administration	65	35.0 ^{*2*3}	15	85.0 ^{*2}	5	94.7 ^{*2}
对照 control	100	0.0	100	0.0	95	0.0

* 1 DR:死亡率(死亡数/总数×100);RPS:相对成活率; * 2 表示与对照组有极显著差异($P < 0.01$); * 3 表示与口服组有极显著差异($P < 0.01$)

* 1 DR:Death rate(death number/total number×100);RPS:relative percent survival; * 2 means significantly different when compared with control group ($P < 0.01$); * 3 means significantly different when compared with oral administration group ($P < 0.01$)

2.5 接种嗜麦芽假单胞菌 LPS 对卵形鲳鲹白细胞吞噬活性的影响

表 2 的结果表明,对卵形鲳鲹以不同方式接种嗜麦芽假单胞菌 LPS 后,在 2~12 周内均可明显提高接种鱼类白细胞的 PP 和 PI。其中,除口服免疫组在第 2 和 12 周、一次腹腔注射免疫组在第 2 周时接种鱼类的白细胞 PP 与相应对照组仅有显著差异外($P < 0.05$),其他所有免疫鱼类在本实验的各检测时间内的白细胞 PP 与对照组均有极显著差异($P < 0.01$)。不同接种方法的比较研究表明,接种鱼类的白细胞 PP 和 PI 的变化情况与血清凝集抗体效价的变化情况类似:加强腹腔注射免疫组最高,1 次腹腔注射免疫组次之,口服免疫组最小。

3 讨论

在水产养殖的病害防治中,如何兼顾养殖生产的持续发展与养殖环境的有效保护是每个水产养殖人员都十分关注的敏感话题。然而,目前在我国乃至全球大多数国家的水产养殖中,对养殖生物病害防治所采用的主要手段仍然是抗生素等化学药物,这些化学药物既严重影响了养殖鱼类的产品质量,又对养殖水域的生态环境造成了严重污染。特别是我国加入 WTO 后,因养殖过程中使用抗生素等化学药物而产生的药物残留将成为制约我国养殖水产品出口的主要因素。因此,开展水产养殖动物免

表2 不同方法接种 LPS 对卵形鲳鲹白细胞吞噬活性的影响

Tab. 2 The effect of LPS on the phagocytic activity of the leucocyte of *T. ovatus* after inoculating by different routes

免疫方法 vaccination routes	测定项目 items	免疫后不同周白细胞的吞噬活性 phagocytic activity of the leucocyte in different weeks after vaccination					
		2	4	6	8	10	12
次腹腔注射法 single i. p. injection	PP*	58.3±5.8* ³	61.1±6.5* ³	60.6±5.9* ³	56.8±6.3* ³	55.3±5.4* ³	54.8±5.2* ²
	PI*	2.2±0.20	2.5±0.23	2.2±0.19	2.0±0.16	2.2±0.17	2.1±0.19
加强腹腔注射法 double i. p. injection	PP	57.7±5.4* ³	60.8±5.7* ³	62.0±6.3* ³	62.5±6.6* ³	61.2±5.9* ³	60.1±5.8* ³
	PI	2.4±0.19	2.3±0.21	2.5±0.22	2.4±0.25	2.3±0.23	2.5±0.23
口服免疫法 oral administration	PP	54.6±5.5* ²	57.4±6.0* ³	57.9±5.3* ³	56.6±5.4* ³	56.1±5.3* ³	55.3±6.0* ²
	PI	2.1±0.14	1.9±0.17	2.3±0.18	2.1±0.17	2.0±0.21	2.2±0.20
对照组 control	PP	49.3±4.8	48.2±4.9	47.6±5.1	50.6±4.6	48.9±4.4	50.1±4.7
	PI	1.8±0.14	1.9±0.11	2.0±0.13	1.8±0.10	1.7±0.14	2.1±0.21

* 1 PP: 吞噬百分比; PI: 吞噬指数; * 2 表示与对照组的同一时期的吞噬百分比有显著差异 ($P < 0.05$); * 3 表示与对照组的同一时期的吞噬百分比有极显著差异 ($P < 0.01$)

* 1 PP: Phagocytic percentage; PI: Phagocytic index; * 2 The PP is different with the control ($P < 0.05$); * 3 The PP is significantly different with the control ($P < 0.01$)

疫防病的研究, 以及通过研究开发预防水产病害的相关疫苗产品, 在养殖生产中具有十分重大的意义。

病原菌的 LPS 是内毒素的主要成分, 因而其本身也有一定的毒性。陈昌福和纪国良^[13]以鱼害粘球菌 (*Myxococcus piscicola*) LPS 免疫草鱼的研究结果表明, 腹腔注射 LPS 达到 $5\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时就可对 50~100g 的草鱼造成一定的伤害; 注射量达到 $25\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时, 在 4d 内实验草鱼将全部死亡。不过, 陈昌福等^[14]以 $45\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的量对鳃接种嗜水气单胞菌 LPS 却未发现异常反应; Matsuyama 和 Mangindaan^[15]以 2~10 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的多种 LPS 接种鲤后也未发现中毒症状。本文对嗜麦芽假单胞菌病 LPS 的毒性研究表明, 虽然该 LPS 对卵形鲳鲹确实具有一定的毒性, 但其致毒剂量比较大, 最低致死量大于 $80\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, LD_{50} 为 $121\pm 10.5\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。在 LPS 的腹腔注射接种中, 由于接种量一般都在 $40\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 以下 (本研究为 $20\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), 因此, 在常规剂量内接种嗜麦芽假单胞菌病 LPS 不会对接种鱼类造成明显伤害。

陈昌福等^[14]对 3 种不同方法制备的嗜水气单胞菌 LPS 研究表明, 不同方法制备的 LPS 的免疫效果存在明显差异: Boivin 提取法制备的 LPS 免疫效果最好, 酚水法次之, 乙二胺四乙酸 (EDTA) 法效果最差。本研究所采用的是国内外比较常用的酚水法, 并根据本研究的实际情况在离心力和浓缩方法上进行了适当修改, 结果表明, 所制备的嗜麦芽假单胞菌 LPS 具有十分良好的免疫原性, 以 1 次腹腔注射免疫、加强腹腔注射免疫和口服法等不同方法接种卵形鲳鲹后, 在接种后 1~5 周内的血清凝集抗体效价快速上升, 并在第 3~5 周达到最高峰。攻毒实验结果也表明, 卵形鲳鲹在接种嗜麦芽假单胞菌 LPS 后, 接种鱼类可产生良好的抵御相关病原感染的能力, 在生产上具有良好的应用前景。

特异性是鱼用疫苗的一个主要特点, 但在鱼用疫苗的生产应用中, 由于特异性的鱼用疫苗只能对某种特定的病原产生抵御效果, 它又成为制约其全面推广的重要因素。为了扩大特异性疫苗对鱼类疾病的预防范围, 目前常常采用的方法为制备混合疫苗或多联疫苗^[2-5]。不过, 本文对卵形鲳鲹嗜麦芽假单胞菌 LPS 的研究表明, 该疫苗除可提高机体对嗜麦芽假单胞菌病的抵抗力外, 还能显著提高接种鱼类白血细胞的吞噬能力, 增强接种鱼类的非特异性免疫功能。

参考文献:

- [1] Zhou Y C, Zhu C H, Zhang B, et al. Isolation and prevention of the pathogen causing large scale death on *Trachinotus aatus*[J]. Mar Sci, 2001, 25(4): 40- 43. [周永灿, 朱传华, 张本, 等. 卵形鲳大规模死亡的病原及其防治[J]. 海洋科学, 2001, 25(4): 40- 43.]
- [2] Yang X L, Chen Y X. The existing situation and tendency in development of fish vaccine[J]. J Fish China, 1996, 20(2): 159- 167. [杨先乐, 陈远新. 鱼用疫苗的现状及其发展趋势[J]. 水产学报, 1996, 20(2): 159- 167.]
- [3] Bricknell I R, King J A, Bowden T J, et al. Duration of protective antibodies, and the correlation with protection in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.), following vaccination with an *Aeromonas salmonicida* vaccine containing iron-regulated outer membrane proteins and secretory polysaccharide[J]. Fish Shellfish Immuno, 1999, 9: 139- 151.
- [4] Sakai M. 1999. Current research status of fish immunosimulant[J]. Aquac, 172: 63- 92
- [5] Yang X L. Advance on fish immunology research[J]. J Fish China, 1989, 13(3): 271- 284. [杨先乐. 鱼类免疫学研究进展[J]. 水产学报, 1989, 13(3): 271- 284.]
- [6] Robberson B S. Bacterial agglutination[A]. Techniques in fish immunology[C]. SOS Publications, Fair Haven, N J, 1990, 81- 86.
- [7] Simko E, Kocal T E, Quinn B A, et al. Influences of *Aeromonas salmonicida* lipopoly-saccharide, prednisolone and water temperature on plasma protein composition in salmonids[J]. J Fish Dis, 1999, 22, 91- 100.
- [8] Takahashi Y, Kondo M, Itami T, et al. Enhancement of disease resistance against penaeid acute viraemia and induction of virus-inactivating activity in oral administration of *Pantoea agglomerans* lipopolysaccharide[J]. Fish Shellfish Immuno, 2000, 10, 555- 558.
- [9] Dalmo R A, Seljelid R. The immunomodulatory effect of LPS, laminaran and sulphated laminaran on Atlantic salmon, *Salmo salar*, macrophages *in vitro*[J]. J Fish Dis, 1995, 18, 175- 185.
- [10] Westphal O, Jann K. Bacterial lipopolysaccharides: extraction with phenol-water and further applications of the procedure[J]. Methods in Carbohydrate Chemistry 5, 83- 96.
- [11] Xu S Y, Bian R L, Chen X. The experimental methods of pharmacology[M]. Beijing: People's Hygiene Press, 1982. 400- 410. [徐叔云, 卞如濂, 陈修. 药理学实验方法[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1982. 400- 410.]
- [12] Ototake M, Moore J D, Nakanishi T. Prolonged immersion improves the effectiveness of dilute *Vibrio* vaccine for rainbow trout[J]. Fish Pathol, 1999, 34(3): 151- 154.
- [13] Chen C F, Ji G L. The immunology response of *Myxococcus piscicola* lipopolysaccharide on *Ctenopharyngodon idellus*[J]. Fresh Fish, 1989, (4): 3- 5. [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.]
- [14] Chen C F, Deng J P, Kusuda R. Comparison of immunogenicity of lipopolysaccharide extracted from *Aeromonas hydrophila* by different methods against manderinfish[J]. J Huazhong Agric Univ, 1999, 18(5): 469- 471. [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鲈免疫活性的比较[J]. 华中农业大学学报, 1999, 18(5): 469- 471.]
- [15] 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.

下期论文摘要

环境因子对缢蛭滤水率的影响

潘鲁青, 范德朋, 马生生, 董双林
(青岛海洋大学海水养殖教育部重点实验室, 山东 青岛 266003)

摘要: 采用实验生态学方法研究环境因子对缢蛭滤水率的影响规律。结果表明: 温度、盐度和 pH 对缢蛭的滤水率有极显著影响($F > F_{0.01}$)。当温度、pH 值分别为 15~ 30℃和 6~ 9 时, 缢蛭的滤水率呈一个峰值变化, 当温度为 20℃、pH 值为 8 时, 其滤水率分别达到最大值; 当盐度在 6~ 30 时, 随着盐度的增大缢蛭的滤水率亦逐渐增高。

关键词: 缢蛭; 温度; 盐度; pH 值; 滤水率