

第一章

对虾无公害健康养殖管理理论

健康养殖包含着更为广泛的内容，不但要求养殖的对虾是健康的个体和群体，养殖产品符合人们食物要求，以保证人类食品安全，而且养殖生态环境应符合养殖品种的生态要求，对虾在这样的养殖环境下，可以发挥品种的遗传潜力，取得最好的生长速度、成活率和饵料效率，而且对虾养殖产业也不对环境造成危害。之所以强调这个概念，主要是因为我国对虾养殖可持续发展的需要。更为重要的是针对当前我国对虾养殖技术及其管理出现的随意性、不安全性及养殖环境恶化。并且因此而导致对虾养殖出现疫病蔓延、种质退化、产品质量下降，甚至有可能影响了人们的食品卫生安全。

健康的对虾，应该有正常生理指标与对环境适应的正常行为，对外部环境有很好的适应能力。如保持正常的生长速度，按周期正常蜕皮，摄食行为及活动无异常，不出现固定化行为等。作为群体，允许极个别的虾出现死亡或疾病，但不应出现传染性疾病流行。应该说，我们目前养殖的对虾，基本上还是野生种群的后代，仍然有较强的抗逆能力及免疫能力，因此应该具有较高的成活率。只要管理得当，完全可做到体内不残留对人体有害的药物、有害的添加剂等。

达到上述要求的养殖技术，须采用保持良好的种质特性的养殖品种，养殖工艺必须体现出综合预防疾病、保护种质资源、保

护环境等方面的功能。在当前对虾养殖生产中，迫切需要强调以下的养殖原理。

一、必须为养殖对虾提供符合其生态生理要求的养殖环境

养殖对虾生病的重要原因是人为增加了其生存密度，改变了对虾的生活环境，对虾生理发生变化，免疫力下降。对虾是一种适应环境领域很广阔的生物，这往往给人们以误解，认为任何条件下，都可以养对虾。特别是一些偶然养殖成功的事例，由于人们对其内在成功的原因缺少深入分析，表面现象容易误导人们的认识。养殖者有时并不了解对虾的需求，或过分强调了短期的利益，投入的技术、能量、物量和期望的产量不相称。有些技术措施是人们把养殖其他动物的经验，想当然的盲目应用于对虾生产。凡此种原因造成某些对虾养殖者在生产过程中有些技术措施，往往不能满足对虾的生理生态要求。什么是养殖对虾的好环境，应以对虾的生理状态正常为标准。对虾健康的维持，有赖于对虾机体内的生理状态平衡和养殖池水环境的平衡、稳定。一方面要求环境因子参数在最适范围内，另一方面短时间内参数变化幅度即使在最适范围内也不应使对虾产生胁迫，出现应激反应。应激反应是动物的一种正常防御机制，但这种生理反应超出对虾生理能以接受的程度，譬如应激原持续存在或持续发生，使机体长期不能从应激状态恢复过来，就会出现负面效应，从而影响机体的正常生理过程，出现免疫机能下降。是否会产生应激以及对虾对应激的适应能力，和当时对虾的生理状态很有关系，尤其在高密度集约化养殖条件下，不同品种的对虾，遗传潜在力有差别，对环境胁迫、营养胁迫的耐受能力有差异。也就是在考虑对虾适应环境要求范围的同时，也应把适应的过程考虑在内。从而设计控制这些环境要素变化的工艺和技术，创造有利于对虾群体

健康的环境条件。使对虾减少胁迫影响，在养殖全过程中，保持对虾的生理指标、免疫能力，处于正常水平。

二、满足对虾营养需求，是对虾抵抗疾病、维持正常生理代谢的重要条件

对虾在养殖全过程，均需要摄取足够的营养要素，以满足其生理活动需要的物质与能量，维持其正常生命活动、免疫功能等。通常，在养殖条件下，单纯的满足投饵量或观察对虾胃饱满，并不足以说明已经满足了对虾的营养需要，关键是摄入的营养要素的质量和数量。由于使用饵料不当，或者使用了劣质人工配合饵料，使对虾营养问题更为突出。这是因为有些饲料生产厂家为经济利益驱使，生产的配合饲料质量不高，而有的养殖者也同样出于暂时的利益或对营养的重要性认识不足，不愿购买价格稍高的优质饵料。必须坚持配制并使用按对虾营养需要生产的优质配合饵料。生产优质饵料，既要有好配方，也需要优质原料和恰当的加工工艺。值得注意的是当前市场上即使是最好的对虾配合饲料，也由于人们对对虾营养生理尚未彻底认识，同时也由于经济上的原因，对虾配合饲料在营养上仍有缺陷这样一个事实。弥补营养不足，最经济最方便的工艺就是重视养殖池内基础饵料的培养和利用。基础饵料是我国养虾界经常使用的术语，它泛指养殖池塘内，对虾可利用的天然繁殖的饵料生物及其产物，如浮游藻类、浮游动物、底栖的多毛类、寡毛类、线虫、小型甲壳类、贝类幼体、微生物和有机碎屑等。即使在精养系统内基础饵料也起重要作用，它可以提供大量的配合饵料难以提供的营养要素，这是一种最经济的有效投入。对虾日粮营养缺乏会导致对虾生长缓慢甚至死亡。因为大宗的蛋白质、必需脂肪酸、糖等是对虾身体的主要成分和能量来源。大多数微量矿物元素及维生素等乃是维持对虾生理

活动的酶类及免疫功能的主要物质基础。已有许多实验证明，长期使用质量较差的配合饵料喂虾，对虾的免疫能力下降。如许多试验表明，饲料中强化维生素 C 或维生素 E 的含量，可以提高对虾的抗“胁迫”（应激）能力，配合饲料中增加某些微生物或微生物形成的活性物质，如某些多糖、酶等可以提高对虾的生长速度及免疫能力。分子水平的动物营养研究表明，日粮中的常量养分及微量养分均可在一定程度上影响动物基因表达，特别是通过代谢途径中的酶量和活性，进而影响机体的整个代谢过程（奚刚，2000）。因此，长期的营养不良，会使养殖对虾变为易感染疾病的群体。不同的养殖条件，对虾的营养要求有差别，野生状态的、粗放养殖的对虾，其营养要求与高密度条件下的对虾，营养要求的指标有差别，需要不断调整。

三、良种选育及种质资源管理是发展对虾集约化养殖，保持对虾养殖可持续发展的重要手段

育种与种质管理是一切养殖业发展的主要科技手段。一方面要保护优良对虾品种的好的种质特性，另一方面要不断地改良对虾遗传特性，进行良种选育，培育适应高密度精养系统、抗逆能力强、生长速度快的品种或品系，适应集约式、高产出的养殖模式。品种选育，首先需要在全人工养殖的条件下才能实现。因此，要建立全人工繁育体系，进而设立良种繁育中心。由繁育中心供应商业育苗生产用的优良亲体或商业用虾苗，一般情况下，商业用苗只能做商业养殖商品虾使用，不应再培养为繁殖亲体，从而保证苗种的种质资源及苗种质量。每一种对虾对环境适应、营养要求的遗传潜力有差别。因此，不同的地区、不同的气候条件、不同的养殖用水条件、不同的养殖模式，应该选择适应该地区、气候条件、用水条件、养殖方式的对虾品种。

四、对虾养殖系统的各项技术措施，应协调配套，处理好各项技术措施的关系和力度

当前对虾养殖有多种养殖方式，如单元养殖、多元养殖、精细养殖、粗放式养殖等，而且养殖对虾品种多样。对虾养殖生产不但有区域性的特点，而且由于对自然条件依赖性，往往是经验性的技术工艺占有重要成分。每项技术和工艺都有其功能，都有其合理性。如我们在生产中往往可看到同样一项技术措施，有人应用很成功，但是有的就失败了，没有达到预期效果。原因是，每项技术措施使用后能否达到预期的目标还要受其他条件、工艺措施制约。因此，存在一个如何应用这些经验和技术的問題。要利用好这些宝贵的信息和知识，必须结合我们每个地区、每个养殖场的实际情况和条件，形成自己的健康养殖配套技术。要注意每项技术之间的相互依赖性和协调性、与整体的配套性。特别要注意有些措施的“负面效应”。如使用抗生素、消毒剂，往往易导致生态失调，破坏生物多样性。为弥补生态失调这个负面影响，可以使用有益细菌、重新构建有利于保持生态稳定的多样性生物群落。因此，如何在同一个养殖池使用这两个措施，就有一个协调性问题。协调性和配套性在集约式养殖中尤为重要，这是因为在粗放的养殖环境条件下，养殖密度较小，自然水体较大，自然生态功能相对比较完整和稳定，偶然的人为失误或干扰，容易通过自然生态功能自动弥补。而在集约式的条件下，许多生态功能依赖人为的措施和干预才能实现。要不断的使各项生产环节中的物质、能量投入和输出技术实现科学化和工程化。

五、对于对虾疾病，以预防为主，防治结合，杜绝发生传染病流行

对虾养殖过程中，对虾疾病一旦出现明显症状，即已经是病

程后期，难以治疗。因为养殖对虾疾病发生有如下特点：对虾是作为群体生活在水体中，由于水色的障碍，很难发现个别对虾发生疾病的初期症状。病原容易经过水体或水域内的生物做载体传播流行，且不易被消灭。对虾的摄食与排泄在同一空间，对虾摄食时，步足不断地翻动食物，用口器咀嚼饵料，均可能造成饵料丢失和可溶性成分流失，形成自家污染，容易造成水质许多因子超过对虾的适应范围，影响到对虾生理功能及免疫力下降，有助于疾病发生。对虾是无脊椎动物，虽然它有坚硬的几丁质甲壳和多种免疫功能，但它不具备特异免疫功能，而且身体有许多薄弱环节，如鳃、触角腺（绿腺）、体节甲壳的连接处。病原体极易从这些部位侵入。以致对虾容易出现多种病原合并感染，难以处理和治理。大多数对虾的疾病，一旦出现明显症状，已经不能摄食，口服药物难以使用，为治疗带来技术和经济上的困难。一般情况下，许多病原体广泛存在于天然水体中，当环境适宜病原繁殖时，如果对虾自身免疫力下降，病原体繁殖到一定数量级，对虾就会出现明显的生病症状。因此，建立以预防为主的预防体系，控制环境中的病原体数量至可能发病的阈值以下，乃是健康养殖管理的重要内容。

针对目前病毒病流行特点，可提出以下预防措施：经常对可能出现的传染性病原，如对对虾的常见致病弧菌、白斑综合征病毒（WSSV）等病原，使用灵敏、准确检测技术，如PCR、核酸探针检测技术做监测；培育和使用无特定病原的健康虾苗，可以切断垂直传播途径；应用生物、物理和化学手段消灭病原及病原携带者，切断病原水平传播途径；避免对虾多种病原合并感染；应用有限水交换系统，建立生物安全体系，减少对虾的胁迫（应激）影响，使对虾处于稳定的环境之下；使用优质饲料和强化对虾营养的添加剂，提高对虾抗胁迫（应激）能力和免疫能力等。

第二章

对虾养殖生物学及养殖生态学

健康养殖管理的实践，来源于对养殖生物的生物学和生态学要求的认识，以及如何在养殖工艺和管理上，尽量发挥出养殖生物的遗传潜力。Dall (1992) 曾经对 1990 年以前的对虾生物学研究结果做过系统的评论，然而对我国中国对虾 (*Fenneropenaeus chinensis*) 的养殖生物学的研究结果介绍不多。20 世纪 60 年代以后，我国由于开展对虾养殖生产的要求，在对虾养殖生物学研究，特别是个体生态学方面积累了大量的资料。由于对虾经济价值较高，取材方便，对虾也成了某些甲壳类基础生物学的研究材料。但是关于对虾养殖生理学、营养生理，对虾养殖系统生态学，养殖自身环境管理学，养殖生产对环境影响，对虾免疫与疾病预防，对虾种质资源等研究却是在 20 世纪 90 年代以后才有了快速发展。对虾生物学基础研究及养殖应用基础研究，已经为对虾健康养殖管理积累了大量的资料。但是我们认为利用这些资料，作为科学养殖的理论依据，设计有效的工艺和管理实践，对健康养殖十分重要。本章着重评价我国在中国对虾以及其他几个主要的养殖对虾种类的养殖生物学基本资料和参数，着重于介绍以它们为代表的对虾繁殖生态，不同生命阶段的生长、成活生物学、生态学，摄食营养生理、营养要求、营养动力学，环境因子要求，健康对虾的生理特征及免疫特性等。我国当前对虾科主要养殖种类有中国对虾 (*Fenneropenaeus chinensis*)、凡纳对虾

(*Litopenaeus vannamei*)、斑节对虾 (*Penaeus monodon*)、日本对虾 (*Marsupenaeus japonicus*)、长毛对虾 (*Fenneropenaeus penicillatus*)、墨吉对虾 (*Fenneropenaeus merguensis*) 和新对虾属 (*Metapenaeus* sp.) 的少数种类。前四种对虾被公认为是世界上最优良的养殖种类, 它们具有优良的生物学特性, 具有广泛的适应不同生境的能力和快速生长的遗传潜力。

第一节对虾的防御机制与免疫特性

天然水域中的健康对虾具有有效抵制、防御大多数病原、抵抗外界病原生物侵入的机制和能力。首先是和外界接触的体表具有两道屏障, 蜡质的上表皮和几丁质外表皮, 形成阻挡病原生物的物理屏障。经常性的蜕皮, 不单是生长的需要, 而且对维持体表清洁、保持体表组织正常结构有重要作用。一旦表皮破损, 则会发生血液凝固封闭伤口, 从而防止血液进一步流失和病原微生物入侵。这种凝固是在转谷氨酰胺酶和凝血蛋白参与下形成的, 涉及血细胞凝集和血淋巴液凝胶共同作用。Fontain 及 Lightner (1973) 曾经详细地描述过虾体愈合上口的过程。从组织学变化可分为, 血细胞向伤口集中凝聚, 血细胞对坏死组织和异物进行吞噬包掩, 并且产生黑色素, 纤维细胞、胶原纤维沉积, 表皮的上皮细胞增生形成新表皮, 外角质层形成等。通过摄食和外界接触的消化道则具有可杀灭病原生物的含有各种酶类的消化液。此外, 对虾体内的免疫系统, 主要是细胞免疫系统和体液免疫系统, 对于对虾健康生活识别异物 (包括病原及其致病因子)、消灭、处理异物, 起着非常关键的作用。虽然对虾生活的天然水体存在着各种潜在的病原, 然而健康的对虾具有正常的生理功能, 有能力保持机体内环境的平衡和适应外界环境变化的能力, 对虾并不生病。因此, 研究并开发利用对虾先天的免疫机能, 可以有效地提高对虾自身预防疾病能力。

1970 年代以后对甲壳类的免疫学才开始有了较多的研究。然而对于对虾类的免疫学研究，主要是在对虾养殖开发以后，特别是虾病大量发生才引起人们的关注。正如同其他甲壳类一样，对虾不具备特异免疫能力。但是它具有先天御防外界病原侵入的免疫系统，其免疫系统习惯上由两部分组成，即细胞免疫系统及体液免疫系统。然而事实上体液免疫中的许多活性物质也来源于血细胞，而血细胞反应又受到体液的一些免疫因子诱导和影响，两者很难截然分开。细胞免疫系统包括血细胞和组织中的吞噬细胞，此外，细胞的包囊、细胞毒活性等也都归属于细胞免疫系统。体液免疫系统主要指对虾血淋巴中的一些可识别异物、杀灭病原的糖蛋白类、酶类、肽等活性物。从目前对对虾免疫研究的文献报道，可以认为，还不能确切的从细节上了解对虾是如何发挥其免疫系统御防和消灭病原的。尤其是对虾在病毒入侵后的免疫特性，我们还缺乏深入了解。许多免疫功能研究是在对虾体外孤立的条件下，观察得到的结果。因此，现在已有的对虾免疫特征，特别是对于病毒的免疫机制，还比较粗浅和零散。

一、血淋巴细胞及其免疫功能

对虾的血淋巴系统是对虾防御病原的主要屏障。血淋巴细胞既是免疫因子又是体液免疫因子的供应者。Söderhäll 在 1992 年曾对甲壳类的免疫做过系统综述，多数人认为甲壳类中的对虾，参与血淋巴循环的血细胞分为三个类型，并对它们的功能作了概述 (Söderhäll, 1992)。目前，多数学者仍然认为，对虾的血细胞应分为三个类型，分别称为透明细胞 (hyaline)、半颗粒细胞 (semigranular) 和颗粒细胞 (granular)。我国学者将对虾的血淋巴细胞根据有无颗粒和颗粒大小，分为无颗粒细胞 (即透明细胞)、小颗粒细胞 (即半颗粒细胞) 和颗粒细胞 (也称大颗粒细胞)，并对其作了电镜观察 (于建平, 1993; 叶燕玲, 1993; 李

光友, 1995 等)。但对虾的血细胞类型一直存在争议。事实上, Dall 在 1990 年就认为所谓的透明细胞可能是大小颗粒细胞的幼年形态 (Dall, 1990) 近年来, 有些学者应用细胞免疫化学、单克隆抗体等技术, 并结合细胞形态、细胞核和细胞质的比例等特征, 进一步研究对虾血细胞分类, 认为如果应用电镜观察, 对虾的血细胞可分为三类。但是使用细胞免疫化学技术、单克隆抗体技术研究, 则认为在对虾体内循环着的血液中的血细胞, 应该是小颗粒细胞 (small-granular) 和大颗粒细胞 (large-granular) 两类, 原来被人们认为的透明细胞, 只是尚未成熟的幼年大、小颗粒细胞。小颗粒细胞在淋巴器官显著成熟, 具有显著的吞噬功能; 大颗粒细胞在结缔组织显著成熟, 它贮有多种细胞免疫保护反应与组织构成的分子 (Braak, 2002)。血细胞不但形态有差别, 而且具有很显著的功能差异。小颗粒细胞内具有小的细胞颗粒, 含有少量酚氧化酶原, 具有吞噬能力。当外界异物侵入机体时, 异物表面的分子信号和血液中的小颗粒细胞上的受体结合, 刺激细胞发生胞吐, 脱颗粒, 把酚氧化酶原释放到周围介质, 酚氧化酶原系统被非己分子激活, 可产生多种黏性蛋白, 7.6 万蛋白就是其中的一种黏蛋白。小颗粒细胞通过在异物表面黏附、扩散而对异物分子和异物颗粒进行识别和反应。该类细胞通过对微生物多糖, 如脂多糖、 β -1, 3 葡聚糖起反应脱颗粒, 也可通过降低钙离子浓度, 诱导脱颗粒。这类细胞比较敏感, 受激活易脱出颗粒, 在体外细胞易解体。该类细胞具有吞噬功能, 是参与包囊反应的主要细胞。由于该类细胞的敏感性, 而且在对虾血细胞总量中占有较大比例, 它们是防御外来异物的关键细胞。大颗粒细胞的细胞内具有大颗粒, 有大量的酚氧化酶原组分, 但不具吞噬功能。用 β -1, 3 葡聚糖、脂多糖处理该类细胞, 细胞不脱颗粒, 但是有活性酚氧化酶存在时, 大颗粒细胞通过 7.6 万因子或 β -1, 3 葡聚糖结合蛋白 (BGBP) 结合而导致它们很快发生胞吐, 进行脱颗粒, 继而酚氧化酶原系统从颗粒中释放出来。酚氧

化原被酚氧化酶原激活酶激活，形成有活性的酚氧化酶，该酶又与大颗粒细胞、小颗粒细胞作用，诱导它们释放颗粒到周围介质，依次连续反应从而扩大对外界侵入的非己因子的细胞应答。

二、细胞吞噬、包囊作用

细胞吞噬，尤其是血细胞的吞噬能力，是对虾防御、消灭病原的重要机制。影响细胞吞噬能力的因素有：病原逃避被吞噬的能力，宿主的生理状态，以及养殖的环境胁迫因素如密度、溶解氧、温度、有毒物质污染等。目前对甲壳类细胞吞噬消灭病原设想的过程是：当外原异物、病原微生物入侵对虾体内后，受血淋巴中的所谓调理因子作用，而容易被吞噬细胞识别，提高吞噬几率。在调理因子参与下，吞噬细胞胞膜内陷，将异物吞噬形成吞噬体。继而吞噬细胞内的溶酶体激活，从而病原被杀灭和降解。血细胞识别异物和粘连异物是由血细胞分泌的调理因子介导，7.6万蛋白质因子可能就是这种调理因子。只有当酚氧化酶原系统被诱导成活性形式，调理因子才能产生（Söderhäll, 1992）。7.6万蛋白以非活化形态存在于颗粒细胞、小颗粒细胞中。血细胞的酚氧化酶原系统被非己分子激活后，7.6万蛋白因子被激活，这就是为什么 β -1,3葡聚糖、酯多糖等处理血细胞，可提高血细胞的吞噬率的原因。当病原或异物侵入对虾血液循环系统中，通过血细胞的吞噬、包囊，形成结节、凝聚等方式清除异物。王雷（2000）在对虾体外观察了中国对虾血淋巴细胞吞噬酵母的“呼吸爆发”现象。由于吞噬过程中由呼吸爆发引起吞噬细胞产生大量过氧化氢和负氧离子等活性氧，对杀灭病原微生物起着重要作用。Braak（2002）应用在斑节对虾身体接种溶藻胶弧菌的方法，观察对虾血细胞和血淋巴清除细菌入侵的机制，特别是对抗原和血细胞颗粒免疫染色，首先观察到在创伤口最初展现大量的血细胞包囊细菌的现象。对虾被注射细菌后，在对

虾身体不同部位可以观察到被凝聚的细菌。进入血液的活的细菌很快就被体液因子诱导被清除，出现减少和降解，但细菌主要是被捕获聚集在淋巴器官，被大量的血细胞特别是小颗粒细胞吞噬，表明血细胞进入淋巴器官前吞噬了细菌。接种的细菌被凝聚、吞噬后被降解。在淋巴器官内血细胞脱颗粒产生一层纤维状物质在淋巴器官的管壁上。由此可以证明，当对虾生病或接种细菌后出现血细胞脱颗粒纤维化，是导致血细胞数量下降的原因。淋巴器官成了外来入侵物质的过滤站，承受着对虾被病原感染后消灭病原的功能。

对虾体内大量微生物入侵，容易在体内被血细胞固定、包掩形成细胞结节、包囊。它们是异物或微生物被对虾多层血细胞包围形成的产物。通常对细菌等微生物形成的包掩比较小，称之为结节。对较大的异物、病原体，如寄生虫等可被多层血细胞封闭，形成的包掩称之为包囊。而且由于酚氧化酶的参与，导致结节、包囊变黑。邓欢（1999）应用注射鳃弧菌，观察了中国对虾血细胞的包掩作用和包囊的形成，发现在所有被感染的对虾体内均可见包掩作用和包囊的形成。血细胞颗粒释放的过程，血细胞形态发生变化，细胞表面突起形成足状，并由于周围粘连的现象，当颗粒完全释放后，血细胞失去游离状态，与周围其他细胞相连。在电镜下观察，包囊中心区是电子致密非结构团块，其外围包围着数层血细胞，这些细胞的细胞核收缩，胞质也萎缩，表明其趋于死亡，越是内层，细胞器官越是退化，包囊的细胞之间形成致密的纤维状连接。包囊在对虾体内分布范围广泛，心脏组织、鳃、胃壁上皮、肠壁结缔组织、淋巴器官、触角腺、神经节的神经分泌细胞群等组织均可见到，仅生殖腺未见包掩现象。包囊大小相差悬殊，小的仅数个细胞，大者直径达 100 微米。小颗粒细胞是进行包囊反应的主要血细胞。它具有在异物表面贴附、扩散而对异物分子进行识别和反应的能力。7.6 万蛋白质在小颗粒细胞包囊异物的过程中具有调理素的作用。

三、对虾的体液免疫

对虾体液血淋巴包含多种识别异物和消除病原的免疫因子。目前研究得比较多的几个因子涉及凝集素、酚氧化酶原系统、抗菌肽以及和免疫有关的几种酶类，如溶酶体酶、碱性磷酸酶、酸性磷酸酶等。

1. 酚氧化酶原系统酚氧化酶是一种含铜的蛋白酶，广泛存在于动物、植物和真菌中，对黑色素的形成具有重要作用。在对虾体内，黑色素及其形成过程中的中间产物均为高活性物质，可抑制病原体胞外蛋白酶和几丁质酶的活性，对于对虾伤口愈合、抑制病原、杀死病原体等方面起重要作用。酚氧化酶还可能是一种调理因子，促进血细胞的黏附、吞噬作用。因此，对虾酚氧化酶原的激活及其对机体的免疫防御机制一直是人们关注的对象。酚氧化酶原激活系统中的因子以非活化状态存在于对虾的小颗粒细胞、大颗粒细胞中，当血细胞受体与非己分子结合或受到其他刺激，细胞产生胞吐、脱颗粒，将酚氧化酶原释放到介质中，该系统的酚氧化酶原激活酶，可被微量的微生物多糖，如 β -1, 3 葡聚糖、脂多糖和肽聚糖等激活，激活后的酚氧化酶原激活酶，又激活酚氧化酶原，并将其转化为具有活性的酚氧化酶。在 WSSV 疾病和对虾免疫关系的研究中，多数学者证实，对虾体内的酚氧化酶活性增高和对虾受到病原感染有关，然而与对虾的发病临床状态并非线性关系，通常是健康对虾的酚氧化酶活性低，受到病原感染后增高，严重感染，临床症状严重，酚氧化酶活性有些对虾个体很高，但有些个体又很低，恐怕和对虾个体的生理状态或病理状态有关。

2. 凝集素一类能与细菌、脊椎动物红血细胞等发生凝集的蛋白因子，凝集素是一种抗体，具有特异性决定簇的受体，对虾体内的一种免疫识别因子。通常认为凝集素在血淋巴中可与

外来病原微生物、异物结合或覆盖于外来异物表面而引起异物聚集，使病原丧失进一步感染宿主的能力。凝集素还具有调理功能，促进吞噬细胞识别，连接吞噬细胞和异物颗粒，促进吞噬细胞对异物的吞噬作用。但是对虾的凝集素在对虾免疫中的具体机制还不清楚。罗日祥等（1997）报道，中国对虾凝集素的活力比某些昆虫的高，而且对虾凝集素活力下降和对虾疾病有密切关系。牟海津（1999）以脊椎动物红血球与对虾血清凝集的最高血清稀释度作为对虾血清的凝集效价，比较了健康对虾和发病对虾的血清对鸡、小鼠和兔的红血球的凝集效价，结果发现，发病对虾的凝集效价大约是健康对虾的 $1/4$ 。

3. 抗菌肽虽然节肢动物昆虫广泛存在抗菌肽，然而对虾体内的抗菌肽发现较晚。Destoumieux D. 等 1997 年在凡纳对虾发现血淋巴三个新抗菌肽，因为这些抗菌肽只有在对虾类可以被检出，所以这些抗菌肽也被称为对虾素。它们对真菌和细菌有抗菌活性，特别是对革兰氏阳性菌的抑制活性更为明显。免疫标记表明，这些抗菌肽存在于血细胞的颗粒细胞和小颗粒细胞中。现在已经证明，对虾感染的最初 1 小时内，血细胞向感染物集结并释放抗菌肽。同时增加血流量、血细胞量及其他综合免疫作用共同应答感染物（Destoumieux, 1997）。

4. 对虾血淋巴中的和免疫有关的几种酶类的变化溶菌酶、溶血素、对虾血淋巴的抗菌活性、氧化酶、超氧化物歧化酶、酸性磷酸酶、碱性磷酸酶等对维持对虾体内的病原微生物杀灭、清除等免疫功能有重要作用，同时它们也在对虾的营养物质消化、吸收和转运等起重要作用。然而许多酶类在对虾体内的免疫机制，还缺乏深入研究。我们对 WSSV 感染群体的对虾多种酶类活性分析，发现由于 WSSV 而致病的发病对虾的酯酶（EST）、过氧化酶（POD）、超氧化物歧化酶（SOD）等的水平都显著下降，病毒感染引起 O_2^- 和 H_2O_2 浓度增高，病毒导致细胞严重损伤；同时机体能量代谢失去平衡，解毒及防御功能下降。对对虾

进行了带毒或发病情况与其免疫指标的综合测定，通过统计分析表明，WSSV 感染的发病对虾，其酚氧化酶和碱性磷酸酶的相对活性大大下降，而潜伏期或对虾群体发病后还生存的耐过对虾的酚氧化酶、碱性磷酸酶、过氧化酶活性较强，对虾血淋巴抗菌活性、溶菌活性、血凝效价等与 WSSV 感染相关性不显著，但 WSSV 感染发病，可打乱溶菌活性与抗菌活性之间的相关性。对虾不同感染 WSSV 阶段，酚氧化酶、碱性磷酸酶等相对活性有显著差异。平均大小顺序为：潜伏感染虾样大于中度感染虾样，中度感染虾样大于严重感染虾样。养殖池内潜伏感染 WSSV 的虾，出现酚氧化酶活性下降，将出现发病症状，而在虾体中，可维持高水平酚氧化酶活性的对虾，可能成为发病群体内仍可生存的耐过虾。

四、环境因素对对虾免疫因子变化的影响

外因对甲壳类免疫参数的影响研究得较少，对对虾类免疫因子参数变化影响的报道更少。但从现有一些资料判断，凡是对虾的生态环境要素超出了对虾的最适参数范围，必然会对对虾的免疫参数产生影响，尤其是生物的代谢产物，如氨、亚硝酸等以及离子态重金属、农药、消毒药物对免疫参数基本上是负面影响。

1. 温度在适应的温度范围内，增加温度可提高对虾血细胞总量。Vargas-Albores 等（1998）报道加州对虾（*Farfantepenaeus californiensis*）在 18~32 范围内，在 32 条件下，血淋巴蛋白含量高，血细胞的酚氧化酶原数量下降。Moullac 等（2000）报道，细角对虾（*Litopenaeus stylirostris*）在 18~27℃ 范围内，27 时血细胞总量高，比在 18 情况下增高 56%。酚氧化酶活性在 27 比在 18 情况下，下降 17%。

近两年的一些研究已经证明，凡纳对虾（*L. vannamei*）在“过热”水温条件下（30 以上）饲养，可以提高对虾在

WSSV 可以感染的环境中的成活率,在过热水温的条件下饲养对虾,刺激对虾的免疫系统,即使感染 WSSV,对虾死亡率也大幅度下降。如在 26℃、32 和非控环境温度三种温度条件下,在 WSSV 发生感染的情况养殖 11 天,在 32 组,成活率为 100%;其他两组,从第二天开始每天发生死亡,6 天半后 26 组成活率为 4%,非控温组成活率为 20%,11 天后,后两组全部死亡。这一结果从对虾病理组织也得到证实,32 组对虾只有少数病变细胞,而 26 组的对虾则有大量典型 WSSV 病变细胞 (Wigglesworth, 2002)。据 Granja 等分析,认为过热水温与增加对虾细胞凋亡(程序性细胞死亡)数量有关。而细胞凋亡具有先天抗病毒机制。实验用 WSSV 感染凡纳对虾 (*L. vannamei*),分别在水温 31.6 ± 2 和 24.9 ± 0.5 条件下饲养一段时间后,两温度组实验对虾的细胞凋亡数有显著差异 (Granja, 2002)。

2. 盐度在适应的盐度范围内,较高盐度条件下对虾血细胞总量较高。Moullac 等 (2000) 报道,保罗对虾 (*Farfantepenaeus paulensis*) 在盐度 34 条件下,血细胞总量比在盐度 22 和 13 情况下高出 20% 以上。在盐度 44 条件下,20 天后,细胞内酚氧化酶原量增加 (Vargas-Albores, 1998)。

3. 溶解氧水环境低溶解氧状态,最容易使对虾免疫系统功能受到伤害,进而发生病原感染致病。如凡纳对虾 (*L. vannamei*) 在碳酸过多状态下低溶解氧(溶解氧只有饱和量的 19%) 48 小时,对虾血细胞总数下降 40%。在此状态下对虾被副溶血弧菌感染,48 小时后死亡率高 (Mikulski 等, 2000)。细角对虾 (*L. stylirostris*) 在溶解氧 1 毫克/升状态下 24 小时,对虾血液的小颗粒细胞和无颗粒细胞减少,由于无颗粒细胞减少,对虾血细胞总数也减少。超氧负离子产生减少。在此缺氧情况下,对虾接种感染溶藻性弧菌实验,对虾死亡率为 48%,高于对照组 32% 的死亡率。然而,在此缺氧状态下,对虾酚氧化酶活性却增加 (Moullac, 1998)。斑节对虾 (*P. monodon*) 溶解氧

为 1.8~2.0 毫克/升状态下 6 小时后, 血细胞的吞噬酵母的吞噬活性有所下降。清除哈维氏弧菌的效率下降 50% (Direkbusarakom 等, 1998)。

4. 氨在养殖系统中, 由于含氮有机物分解产生氨, 对虾养殖最重要的代谢产物也是氨, 因此养殖水环境中氨的数量, 特别是分子态的氨, 是最重要的水质参数。不同种类的对虾对氨态氮的耐受力不同。细角对虾 (*L. stylirostris*) 在氨态氮为 3.0 毫克/升状态下, 对虾血细胞总数下降 51%, 酚氧化酶活性增加 33%。最近的研究表明, 氨对对虾的酚氧化酶原、抗菌肽等基因转录表达产生影响 (Moullac, 2000)。中国对虾 (体长 9.5 厘米) 在总氨态氮 2.5 毫克/升 (相应的非离子氨量为 0.1 毫克/升) pH7.8 条件下养殖 20 天, 对虾血细胞总数下降为 2.4×10^5 个/升, 对照组为 7.15×10^5 个/升。其他免疫因子, 酚氧化酶、超氧化物歧化酶、过氧化物酶、溶菌活力、抗菌活力等均比对照组有所下降 (孙舰军, 1999)。

5. 多糖类在研究对虾免疫因子已经发现如 β -1, 3 葡聚糖、脂多糖和肽聚糖等在免疫生化过程中的激活作用。利用注射、浸泡、口服等方法对对虾使用多糖类, 同样可以提高对虾的免疫效果。如用粗提产物, 北虫草 (*Cordyceps militaris*) 发酵产物的胞内杂多糖, 注射对虾体内, 可使中国对虾 (*Fenneropenaeus chinensis*) 血淋巴细胞吞噬率提高 11.4%, 吞噬指数提高 39.7%。溶菌酶活力、凝集素活性、血清的溶血活性等均有所提高 (江晓路等, 1999)。用 β -葡聚糖和多糖硫酸盐浸泡凡纳对虾 (*L. vannamei*) 幼虾, 可使对虾血细胞和肌肉的负氧离子、超氧化物歧化酶活性比对照组高 2 倍和 1.4 倍。48~120 小时后, 对虾总血细胞数和血液可溶蛋白超过正常值, 用这两种免疫刺激物单独浸泡也可增加血液呼吸爆发 (Campa-Cordova, 2002)。在对虾感染 WSSV 的情况下, 使用口服肽聚糖, 对提高对虾血细胞总量有一定作用。