

DOI: 10.19663/j.issn2095-9869.20190610001

http://www.yykxjz.cn/

敖秋桅, 罗永巨, 吕敏, 朱佳杰. 不同罗非鱼品系感染无乳链球菌后对血液和肝胰腺生化指标的影响. 渔业科学进展, 2020, 41(4): 167-173

Ao QW, Luo YJ, Lü M, Zhu JJ. Effects of *Streptococcus agalactiae* infection on blood and hepatopancreatic tissue biochemical indices in different species of tilapia. Progress in Fishery Sciences, 2020, 41(4): 167-173

## 不同罗非鱼品系感染无乳链球菌后 对血液和肝胰腺生化指标的影响\*

敖秋桅 罗永巨 吕敏 朱佳杰<sup>①</sup>

(广西壮族自治区水产科学研究院 广西水产遗传育种与健康养殖重点实验室 南宁 530021)

**摘要** 为探究无乳链球菌(*Streptococcus agalactiae*)感染后对罗非鱼的血液和肝胰腺生化指标的影响,本研究以吉富罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)抗病选育系 F<sub>5</sub>代、奥尼罗非鱼(*Oreochromis aureus* × *O. niloticus*)、吉富罗非鱼“百桂”品系为对象,通过人工腹腔注射感染无乳链球菌,检测感染后不同时期肝胰腺和血液中的酸性磷酸酶(ACP)、碱性磷酸酶(AKP)、过氧化氢酶(CAT)、超氧化物歧化酶(SOD)、总抗氧化能力(T-AOC)和溶菌酶(LZM)活性的变化。结果显示,奥尼罗非鱼、吉富罗非鱼抗病选育系 F<sub>5</sub>代和吉富罗非鱼“百桂”品系的平均死亡率分别为 55.4%、60.5%和 78.6%,表明奥尼罗非鱼抗感染能力最强;3个品系感染无乳链球菌后,肝胰腺组织中的 ACP、AKP、SOD 和 T-AOC 酶活力均呈先升高后下降的趋势,其中,在感染后 24 h,奥尼罗非鱼的 AKP 和 CAT 酶活力显著高于吉富罗非鱼抗病选育系 F<sub>5</sub>代和吉富罗非鱼“百桂”品系;而感染后 24 h,血清中 ACP、AKP、LZM、CAT 和 T-AOC 酶均显著升高,而 SOD 酶则下降,其中,奥尼罗非鱼的 ACP、AKP、CAT 和 T-AOC 酶活性明显高于吉富罗非鱼抗病选育系 F<sub>5</sub>代和吉富罗非鱼“百桂”品系。综合比较 6 种酶在感染后不同时期的活性变化及 3 个品系的感染存活率,筛选出 AKP 和 CAT 作为评估罗非鱼抗无乳链球菌感染能力强弱的指标。

**关键词** 罗非鱼; 无乳链球菌; 免疫酶

**中图分类号** S817.4 **文献标识码** A **文章编号** 2095-9869(2020)04-0167-07

硬骨鱼类作为较低等的脊椎动物,其免疫系统分为非特异性免疫(Innate)和特异性免疫(Adaptive)两种(Sasimanas *et al*, 2015)。鱼类受外界抗原刺激后会进入应激状态,非特异免疫系统被激活以抵御病原菌感染。免疫应答过程中,产生大量的活性氧自由基(ROS),

刺激机体增加抗氧化酶的分泌,如过氧化氢酶(CAT)、超氧化物歧化酶(SOD)等来清除过量的 ROS。而免疫相关组织受损后导致 ROS 清除能力下降,过剩的 ROS 会对机体造成生物损伤及免疫力下降,继而表现出发病症状,如发炎、肿瘤等(Sifa *et al*, 2002)。因此,

\* 国家重点研发计划课题(2018YFD0900302-5)、广西科技重大专项(桂科 AA17204080-2)、国家特色淡水鱼产业技术体系(CARS-46)、广西水产畜牧科技推广应用(GXIF-2016-015)和广西重点研发计划项目(桂科 AB16380077)共同资助 [This work was supported by the Key Research and Development Program of China (2018YFD0900302-5), Guangxi Major Projects for Science and Technology (AA17204080-2), Freshwater Fishery Industry Technology System of China (CARS-46), Guangxi Aquaculture and Husbandry of Science and Technology of Promotion of Application (GXIF-2016-015), and Guangxi Key Research and Development Program (AB16380077)]. 敖秋桅, E-mail: 179312955@qq.com

① 通讯作者: 朱佳杰, 副研究员, E-mail: 724790058@qq.com

收稿日期: 2019-06-10, 收修改稿日期: 2019-08-09

可以通过检测病原菌胁迫后鱼体内血液和相关组织的生化指标来评价鱼体的健康状态。

罗非鱼是联合国粮农组织(FAO)向全世界推广养殖的优良品种(Zhu *et al.*, 2017), 也是中国水产养殖的重要品种(Zhu *et al.*, 2015)。近几年, 受罗非鱼养殖规模的盲目扩大和养殖环境恶化等因素的影响, 中国南方地区 90%的罗非鱼养殖场均不同程度暴发过无乳链球菌(*Streptococcus agalactiae*)病, 感染死亡率最高可达 90%(Ye *et al.*, 2011; Chen *et al.*, 2012), 给养殖从业者造成了巨大的经济损失, 目前, 尚未找到有效根治的措施。为从种源上提高罗非鱼抵抗无乳链球菌侵袭的能力, 开展抗无乳链球菌病品种选育已刻不容缓, 而筛选出罗非鱼抗病性能评价指标是开展抗病育种的关键。目前, 对罗非鱼感染细菌性疾病后机体内血清生化指标的研究已有相关报道, 如 Chen 等(2012)等研究了罗非鱼在海豚链球菌(*Streptococcus iniae*)和创伤弧菌(*Vibrio vulnificus*)胁迫下血清生化指标的变化, Benli 等(2004)研究了尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)感染迟钝爱德华菌(*Edwardsiella tarda*)后的免疫相关酶的活性变化, 韦现色等(2014)检测了吉富罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)感染无乳链球菌后尿素氮、肌酐含量以及肝胰腺溶菌酶、谷丙转氨酶和黄嘌呤氧化酶的活性变化。以上研究仅针对病原菌胁迫感染后对罗非鱼机体内免疫相关酶活性的影响, 并没有开展抗病性能评价免疫酶指标筛选的报道。

本研究对抗病力较强的奥尼罗非鱼(*Oreochromis aureus* × *O. niloticus*)、较易发病的吉富罗非鱼“百桂”品系及经 5 个世代选育后的吉富罗非鱼抗病品系进行人工感染无乳链球菌, 比较 3 个品系感染后的存活率、肝胰腺组织和血清中的免疫相关酶的活性变化, 旨在筛选出罗非鱼抗无乳链球菌感染能力的评价指标, 为罗非鱼抗病新品种选育提供参考依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

实验材料为吉富罗非鱼抗病选育系 F<sub>5</sub> 代(以下简称抗病品系)、奥尼罗非鱼(以下简称奥尼品系)和吉富罗非鱼“百桂”品系(以下简称“百桂”品系), 均来源于国家级广西南宁罗非鱼良种场。选取健康有活力、规格统一[平均重为(56.48±0.70) g]的 3 个罗非鱼品系各 125 尾, 常规暂养 8~10 d, 水温为 30℃~31℃。实验前, 先用鸡血平板对 3 个罗非鱼品系(每个品系 3 尾鱼)进行接种分离, 检测是否携带链球菌病原。

### 1.2 菌株来源与复苏

实验所用的菌株(无乳链球菌 HN016)由本院鱼病防治研究室馈赠。菌株的复苏与培养参考朱佳杰等(2012)的方法, 培养的菌液经革兰氏染色无杂菌后用 PBS 溶液将菌液稀释至半数致死浓度  $1 \times 10^7$  CFU/ml。

### 1.3 无乳链球菌感染实验

人工腹腔注射方式感染无乳链球菌, 每个品系注射 90 尾鱼(30 尾鱼为 1 个重复, 养殖容器为 1 m<sup>3</sup> 水桶), 每尾鱼注射 0.2 ml 菌液。每个品系均设对照组(30 尾), 注射等量 PBS 溶液。感染后每隔 3 h 观察 1 次实验鱼的情况, 实时记录死鱼数量, 保持水质新鲜。

### 1.4 样品采集、处理与测定

无乳链球菌感染后, 每个实验组分别于 0 h(感染实验前)、感染后 24 h 取 3 尾鱼进行尾静脉采血, 分离血清, 保存于-20℃; 同时, 采集 0 h、感染后 5 h 和 24 h 的肝胰腺组织, 保存于-80℃。分别测定血清和肝胰腺组织中 SOD、CAT、酸性磷酸酶(ACP)、碱性磷酸酶(AKP)、溶菌酶(LZM)、总抗氧化能力(T-AOC)的活性。酶活性检测试剂盒购自南京建成生物工程研究所。

### 1.5 数据处理

使用 SPSS 18.0 统计软件进行统计学处理, 计算所得数据以平均值±标准差(Mean±SD)表示。各组间差异使用单因素方差分析(One-way ANOVA)进行多重比较。

## 2 结果与分析

### 2.1 无乳链球菌胁迫下不同罗非鱼品系的死亡率统计

3 个罗非鱼品系感染后都出现了典型的无乳链球菌病症状, 其表现为鱼体失去平衡上下翻滚、打圈、鳃充血、眼球浑浊红肿等, 解剖后发现, 肝胰腺、肾、脾明显肿大出血、肠排空等症状。采用黎炯等(2010)的无乳链球菌 PCR 鉴定方法确诊感染了无乳链球菌病。3 个品系感染无乳链球菌后的累积死亡率如图 1 所示, 感染后 24 h 开始出现死鱼, 24~72 h 为死亡高峰期, 72 h 后死亡鱼数量逐渐趋向平稳。抗病品系、“百桂”品系和奥尼品系的平均累积死亡率分别为 60.5%、78.6% 和 55.4%(图 1)。

### 2.2 3 个罗非鱼品系感染无乳链球菌后肝胰腺组织中免疫相关酶活性的变化

由图 2A 可见, 感染前(0 h), 3 个罗非鱼品系肝胰腺组织中 ACP 活力的大小依次为“百桂”品系>奥尼

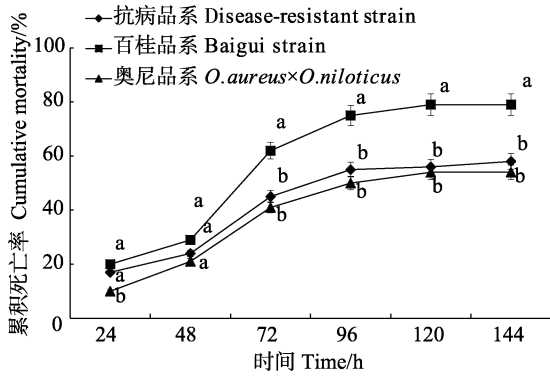


图 1 3 个罗非鱼品系感染无乳链菌后的平均累积死亡率  
Fig.1 The mortality statistics of three tilapia strains after *Streptococcus agalactiae* infection

同一时间点不同小写字母表示差异显著( $P < 0.05$ )

Different lowercase letters indicate significant difference at the same time point ( $P < 0.05$ )

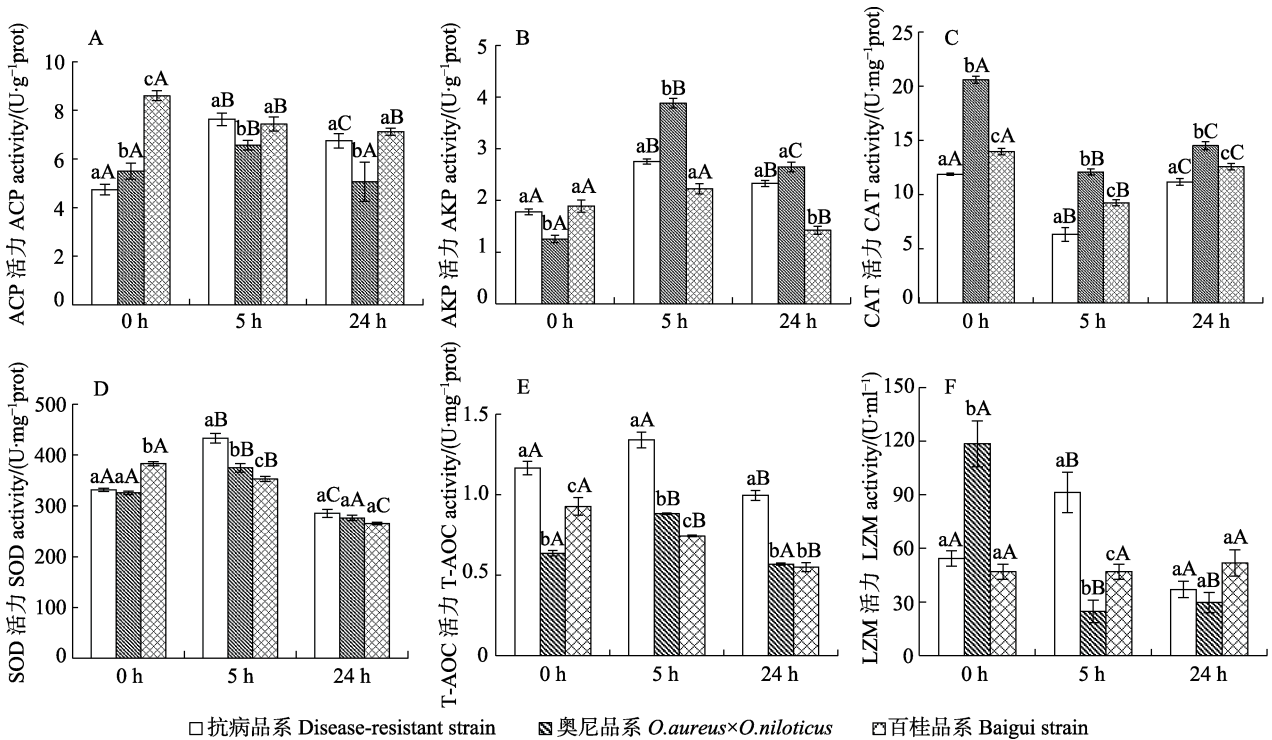
品系>抗病品系,三者之间差异显著( $P < 0.05$ )。感染后 5 h,抗病品系和奥尼品系的 ACP 活力显著上升,而“百桂”品系的 ACP 活力显著下降( $P < 0.05$ )。感染后 24 h,抗病品系和奥尼品系的 ACP 活力显著下降,其中奥尼品系的 ACP 活力显著低于其他品系( $P < 0.05$ )。

由图 2B 可见,感染前(0 h),奥尼品系肝胰腺中 AKP 活力显著低于其他 2 个品系( $P < 0.05$ )。感染后 5 h,抗病品系和奥尼品系的 AKP 活力显著上升( $P < 0.05$ ),而“百桂”品系与感染前相比差异不显著( $P > 0.05$ )。感染后 24 h,和奥尼“百桂”品系肝胰腺组织的 AKP 活力均显著下降。

由图 2C 可见,感染前(0 h) 3 个品系肝胰腺中的 CAT 活力以奥尼品系的活力最高,各组间比较差异显著( $P < 0.05$ )。感染后 5 h, 3 个品系的 CAT 活力均显著下降,各组间差异显著( $P < 0.05$ )。感染后 24 h, CAT 的活力逐渐上升,但仍低于感染前的水平,其中,以奥尼品系的活力最高。

由图 2D 可见,感染前(0 h),抗病品系和奥尼品系肝胰腺中 SOD 活力显著低于“百桂”品系( $P < 0.05$ )。感染后 5 h,抗病品系和奥尼品系的 SOD 活力显著上升,而“百桂”品系则显著下降( $P < 0.05$ ),抗病品系和奥尼品系的 SOD 活力均高于“百桂”品系。感染后 24 h, 3 个品系的 SOD 活力均低于感染前的水平,其中,抗病品系的活力最高。

由图 2E 可见,感染前(0 h), 3 个品系肝胰腺组织中 T-AOC 活力大小依次为抗病品系>“百桂”品系>



□ 抗病品系 Disease-resistant strain    ▨ 奥尼品系 *O. aureus* × *O. niloticus*    ▩ 百桂品系 Baigui strain

图 2 3 个罗非鱼品系感染无乳链球菌后肝胰腺组织免疫相关酶活力的变化

Fig.2 Comparison of the liver immune-related enzyme activity in three tilapia strains after *Streptococcus agalactiae* infection

不同大写字母表示同一品系在不同时间点有显著差异( $P < 0.05$ );

不同小写字母表示同一时间点的不同品系有显著差异( $P < 0.05$ )。下同

Different capital letters indicate significant differences of the same strain at different time points ( $P < 0.05$ ); Different lowercase letters indicate significant differences in different strains at the same time point ( $P < 0.05$ ). The same as below

奥尼品系,三者间差异显著( $P<0.05$ )。感染后 5 h,奥尼品系中 T-AOC 活力显著上升,“百桂”品系中 T-AOC 活力显著下降( $P<0.05$ )。感染后 24 h,抗病和奥尼品系的 T-AOC 活力均显著下降( $P<0.05$ ),其中,抗病品系的活力最高。由图 2F 可见,感染前(0 h),3 个品系肝胰腺中 LZM 的活力大小依次为奥尼品系>抗病品系>“百桂”品系。感染后 5 h,抗病选育品系的活力显著上升( $P<0.05$ ),奥尼品系的活力则显著下降( $P<0.005$ ),感染后 24 h,抗病品系和奥尼品系均显著下降,其 LZM 活力均低于感染前的水平,而“百桂”品系在感染前后均无显著变化( $P>0.05$ )。

### 2.3 3 个罗非鱼品系感染无乳链球菌后血清中免疫相关酶活性的变化

3 个罗非鱼品系感染无乳链球菌后血清中免疫相关酶活性的变化见图 3。在无乳链球菌感染 24 h 后,抗病和奥尼品系的 ACP 和 T-AOC 活性均显著上升( $P<0.05$ ),而“百桂”品系变化不显著( $P>0.05$ ); AKP、CAT 和 LZM 在 3 个品系感染 24 h 后均显著上调( $P<0.05$ ),其中,AKP 和 CAT 以奥尼品系的活性最高,LZM 则以抗病品系活性最高;SOD 在感染 24 h 后活性呈下降趋势,抗病选育品系和奥尼罗非鱼下降最明显,这 2 个品系与“百桂”品系相比差异显著( $P<0.05$ )。

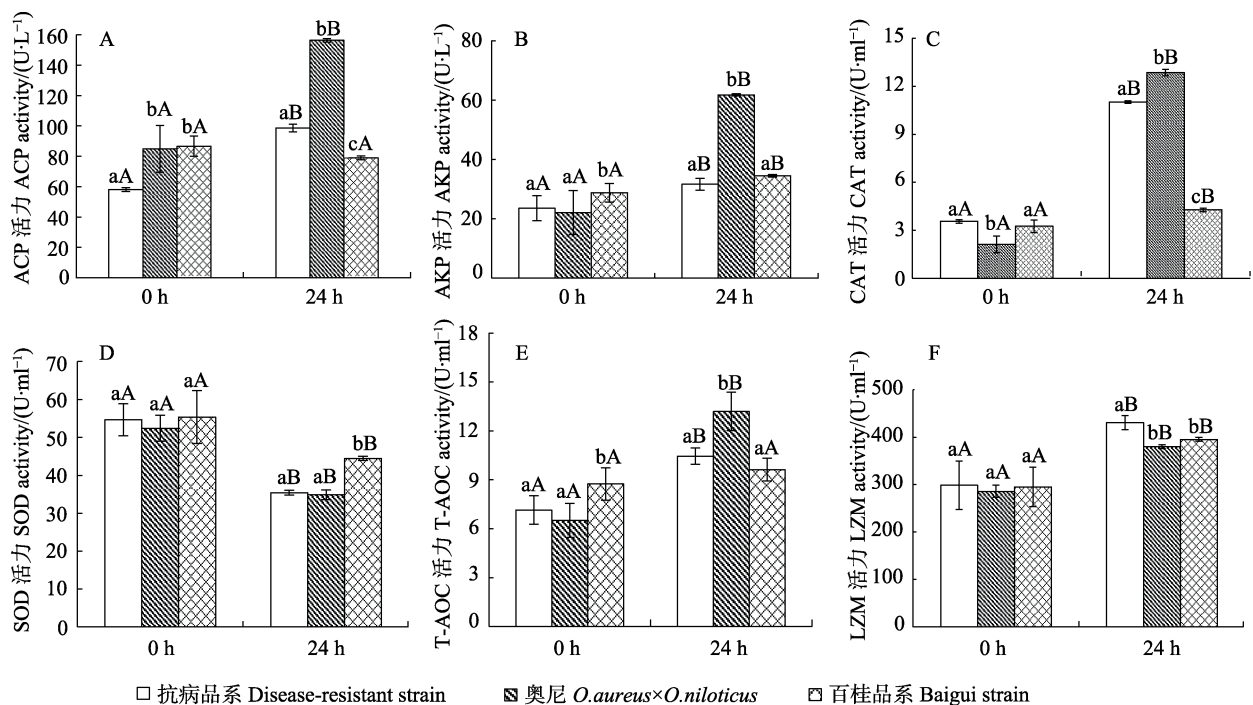


图 3 3 个罗非鱼品系感染无乳链球菌前后血液中免疫相关酶活性的变化

Fig.3 Comparison of the blood immune-related enzyme activity in three tilapia strains after *Streptococcus agalactiae* infection

对 3 个品系感染无乳链球菌前后肝胰腺组织和血清中 6 个免疫相关酶活性进行关联分析发现,在感染后 24 h,AKP 和 CAT 在奥尼品系的表达量显著高于抗病品系和奥尼品系( $P<0.05$ ),结合奥尼品系感染无乳链球菌后的存活率最高得出,可以通过检测不同罗非鱼个体或群体感染无乳链球菌后 24 h AKP 和 CAT 的表达量高低来判断个体或群体抗病力的强弱。

### 3 讨论

鱼类属于较低等的生物,在受到外界环境胁迫应激时,非特异性免疫系统作为鱼类抵抗病原的第一道屏障率先发挥作用,免疫过程会诱发鱼体免疫器官释放大量的活性氧自由基(ROS)到血液中,经血液循环

后到达各个组织,过量的 ROS 会对机体各个组织器官的机能造成损伤(Ardó *et al*, 2010),从而表现出症状。无乳链球菌属于革兰氏阳性菌,是目前中国罗非鱼养殖的首要致病菌(黎源等, 2017),感染后的罗非鱼体内典型的病变就是肝胰腺组织肿大坏死,而肝胰腺是罗非鱼机体物质代谢的中枢器官和解毒器官(Chen *et al*, 2011; 强俊等, 2012)。血液的生理生化是评估鱼体的健康状态的一个重要参数,可作为实时反映鱼体的生理状态变化和机体抵御抗原的有力指标(Chen *et al*, 2013; Clauss *et al*, 2008)。因此,研究罗非鱼感染无乳链球菌后肝胰腺组织及血液中免疫相关酶活性的变化,对研制防治药物及筛选抗病评价指标均具有重要意义。

ACP 和 AKP 广泛分布于动物体内, 是 2 种参与磷酸基团转移和代谢的调控酶。ACP 是巨噬细胞溶菌酶的特征性酶, 直接参与吞噬作用, 能协助杀死及吞噬病原体, 还能形成水解酶体系消除异物, 主要存在于鱼类的肝胰腺、脾脏和血液中(Grinde *et al*, 1998)。AKP 是机体解毒系统中的重要组成之一, 在碱性环境下能水解磷酸单酯起到解毒的作用, 发挥免疫防御功能(刘石林等, 2016)。高温胁迫刺参(*Apostichopus japonicus*)(刘石林等, 2016)和亚硝酸盐胁迫草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)(叶俊等, 2016)均显著影响到 ACP 和 AKP 酶活力的变化。冯宁宇等(2014)研究发现, ACP 和 AKP 可作为评价脊尾白虾(*Exopalaemon carinicauda*)抗 WSSV 能力的指标。本研究发现, 在感染前抗病品系和奥尼品系肝胰腺组织的 ACP 和 AKP 酶活力均低于“百桂”品系, 而感染后抗病和奥尼品系均呈先上升后下降的趋势, 这可能是感染后体内病原菌的增殖使得肝胰腺组织通过去磷酸化应激反应来适应病原菌的侵染有关, 而“百桂”品系由于抵抗感染能力较弱, 则处于下降趋势。此外, 3 个品系感染后 24 h 的血清中 AKP 活力均呈现上升趋势, 这是由于肝胰腺及其他免疫器官组织因病原菌入侵释放了大量的活性氧自由基(ROS), 这些 ROS 通过新陈代谢进入血液循环系统中, 从而导致血清中的 AKP 酶活力在处于上升状态, 其中, 奥尼罗非鱼感染后, 肝胰腺和血清中的 AKP 酶活性均显著高于其他 2 个品系。由此暗示, 通过检测无乳链球菌感染后 AKP 酶活性高低, 可作为评估罗非鱼抗感染能力强弱的一个指标。

SOD 是机体抗氧化的关键酶之一(罗胜玉等, 2017), 在清除机体活性氧自由基、辅助吞噬细胞增强杀菌功能及提高机体的免疫功能等方面起着重要作用, 可作为反映机体自由基代谢和氧化损伤的重要依据, 为判断鱼体的健康水平及免疫能力提供参考(徐增辉等, 2008; Zenteno-Savin *et al*, 2006)。唐保军等(2017)研究发现, 高盐度胁迫黄边糙鸟蛤(*Trachycardium flavum*)后, SOD 活性呈先升高后下降的趋势。本研究发现, 感染后 5 h, 抗病品系和奥尼品系肝胰腺的 SOD 活力显著上升, 这说明由于病原菌的侵入引起的免疫应答和炎症反应很可能引起鱼体内 ROS 积聚, 从而引发肝胰腺组织合成 SOD 酶的能力增强, 减轻 ROS 对机体损伤。而感染后 24 h, 肝胰腺组织和血清中 SOD 活力均明显下降, 说明病原菌已引发相关组织损伤, 导致机体新陈代谢和能量代谢合成各种酶的能力下降。

CAT 作为机体重要的抗氧化功能酶, 能够催化过氧化氢分解, 补偿机体清除自由基的能力。T-AOC 能

反映机体抗自由基的能力(Elvitigala *et al*, 2013)。赵静等(2015)研究发现, 齐口裂腹鱼(*Schizothorax prenanti*)感染嗜水气单胞菌(*Aeromonas hydrophila*)后, 血清中的 CAT 和 T-AOC 呈现短暂上升后再下降的趋势。本研究发现, 3 个罗非鱼品系感染后, 血清中 CAT 和 T-AOC 活性明显升高, 表明病原菌胁迫鱼后激活了机体的抗氧化系统, 通过提高相关酶的活性来清除机体产生的 ROS, 其中, 奥尼品系的活性显著高于其他 2 个品系。而感染后在肝胰腺组织和血清中 CAT 的活性以奥尼品系最高, “百桂”品系最低。综合比较 CAT 在 3 个品系的肝胰腺和血清中的变化, 再结合它们的感染存活率, 可将 CAT 作为评价罗非鱼抗无乳链球菌感染能力强弱的一个生化指标。

LZM 作为鱼类的非特异性免疫物质之一, 主要在肝胰腺内合成通过裂解外源性病原菌的细胞壁、糖苷键或酰基葡萄糖键来达到清除病原菌的目的, 尤其对革兰氏阳性菌有良好的杀菌作用, 本研究所用无乳链球菌属于革兰氏阳性菌(Fujimoto *et al*, 2001)。本研究发现, 抗病品系的肝胰腺组织在感染无乳链球菌后 5~24 h, 肝胰腺体组织的 LZM 活力呈先升高后降低的趋势, 这与溶藻弧菌(*Vibrio alginolyticus*)感染三疣梭子蟹(*Portunus trituberculatus*) (谢建军等, 2011)和鳃弧菌(*Vibrio anguillarum*)感染中国明对虾(*Penaeus monodon*)(Yin *et al*, 2014)的结果相近, 说明无乳链球菌进入罗非鱼体内后, 机体提高了肝胰腺 LZM 的合成量并释放到血清中。而 LZM 活力的提高, 可增强 LZM 清除无乳链球菌的能力, 提高机体的免疫抵抗力。而“百桂”品系的 LZM 活力在感染前后变化不明显, 这可能是该品系对无乳链球菌刺激在 LZM 的分泌上反应不敏感, 导致 LZM 活力的变化不大。

本研究分析了 3 个罗非鱼品系感染无乳链球菌后肝胰腺组织和血清中 SOD、CAT、ACP、AKP、LZM 和 T-AOC 酶活性的变化, 结合 3 个品系感染后的存活率进行关联分析, 筛选出 AKP 和 CAT 可作为评价罗非鱼抗无乳链球菌病能力的生化指标。研究结果可为罗非鱼抗无乳链球菌新品种选育提供参考依据。

## 参 考 文 献

- Ardó L, Jeney Z, Adams A, *et al*. Immune responses of resistant and sensitive common carp families following experimental challenge with *Aeromonas hydrophila*. *Fish and Shellfish Immunology*, 2010, 29: 111–116
- Benli ACK, Yildiz HY. Blood parameters in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) spontaneously infected with *Edwardsiella tarda*. *Aquaculture Research*, 2004, 35, 1388–1390

- Chen C, Yang B, Zeng Z, *et al.* Genetic dissection of blood lipid traits by integrating genome-wide association study and gene expression profiling in a porcine model. *BMC Genomics*, 2013, 14: 848
- Chen D, Wang K, Geng Y, *et al.* Pathological changes in cultured channel catfish *Ictalurus punctatus* spontaneously infected with *Streptococcus iniae*. *Diseases of Aquatic Organisms*, 2011, 95(3): 203–208
- Chen M, Li LP, Wang R, *et al.* PCR detection and PFGE genotype analyses of streptococcal clinical isolates from tilapia in China. *Veterinary Microbiology*, 2012, 159: 526–530
- Clauss TM, Dove ADM, Arnold JE. Hematologic disorders of fish. *Veterinary Clinics of North America Exotic Animal Practice*, 2008, 11(3): 445–462
- Elvitigala DAS, Premachandra HKA, Whang I, *et al.* Marine teleost ortholog of catalase from rock bream (*Oplegnathus fasciatus*): Molecular perspectives from genomic organization to enzymatic behavior with respect to its potent antioxidant properties. *Fish and Shellfish Immunology*, 2013, 35(4): 1086–1096
- Feng NN, Sun YM, Wen R, *et al.* Analysis on the activity of immune related enzymes in survived *Exopalaemon carinicauda* from WSSV infection. *Marine Sciences*, 2014, 38(3): 75–79 [冯宁宁, 孙玉苗, 温荣, 等. 脊尾白虾白斑综合征病毒耐受群体重要免疫相关酶的活性分析. *海洋科学*, 2014, 38(3): 75–79]
- Fujimoto S, Toshimori-Tsuda I, Kishimoto K, *et al.* Protein purification cDNA cloning and gene expression of lysozyme from eri-silkworm, *Samia cynthia ricini*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B Biochemistry and Molecular Biology*, 2001, 128(4): 709–718
- Grinde B, Jolles J, Jolles P. Purification and characteristic of two lysozymes from rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *European Journal of Biochemistry*, 1998, 173(2): 269–273
- Li J, Ye X, Lu MX, *et al.* Rapid identification of *Streptococcus agalactiae* and *Streptococcus iniae* with duplex PCR assay. *Journal of Hunan Agricultural University (Natural Sciences)*, 2010, 36(4): 449–452 [黎炯, 叶星, 卢迈新, 等. 双重PCR快速鉴别无乳链球菌和海豚链球菌. *湖南农业大学学报(自然科学版)*, 2010, 36(4): 449–452]
- Liu SL, Ru XS, Xu QZ, *et al.* Effects of high-temperature stress on several immune enzyme activities of *Apostichopus japonicus* thermotolerant and normal species. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2016, 23(2): 344–351 [刘石林, 茹小尚, 徐勤增, 等. 高温胁迫对刺参耐高温群体和普通群体主要免疫酶活力的影响. *中国水产科学*, 2016, 23(2): 344–351]
- Li Y, Wang B, Wang ZW, *et al.* Transmission routes of *Streptococcus agalactiae* and the strategy of immune evasion in tilapia. *Guangdong Agricultural Sciences*, 2017, 44(7): 132–140 [黎源, 王蓓, 汪志文, 等. 罗非鱼无乳链球菌传播途径与逃避宿主免疫防御策略. *广东农业科学*, 2017, 44(7): 132–140]
- Luo SY, Xu DD, Lou B, *et al.* Effects of low temperature stress on activities of antioxidant enzymes, Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATP enzyme and Hsp70 content of *Nibea albiflora*. *Marine Science Bulletin*, 2017, 36(2): 189–194 [罗胜玉, 徐冬冬, 楼宝, 等. 低温胁迫对黄姑鱼(*Nibea albiflora*)抗氧化酶、Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATP酶及 Hsp70 蛋白含量的影响. *海洋通报*, 2017, 36(2): 189–194]
- Qiang J, Yang H, Wang H, *et al.* Studies on blood biochemical indices and expression of hepatic HSP70 mRNA of different tilapia strains artificially challenged with *Streptococcus iniae*. *Journal of Fisheries of China*, 2012, 36(6): 958–968 [强俊, 杨弘, 王辉, 等. 海豚链球菌感染对不同品系罗非鱼血液生化指标和肝脏 HSP70 mRNA 表达的影响. *水产学报*, 2012, 36(6): 958–968]
- Sasimanas U, Nutthida P, Napat S, *et al.* Molecular characterization of Galectin-8 from Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* Linn.) and its response to bacterial infection. *Molecular Immunology*, 2015, 68(2): 585–596
- Sifa L, Chenhong L, Dey M, *et al.* Cold tolerance of three strains of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), in China. *Aquaculture*, 2002, 213(1): 123–129
- Tang BJ, Zou X, Yin F. Effects of acute hyperosmotic stress on metabolic rates and immune-related enzymatic activities in clam (*Trachycardium flavum*). *Progress in Fishery Sciences*, 2017, 38(2): 143–150 [唐保军, 邹雄, 尹飞. 高盐胁迫对黄边糙鸟蛤(*Trachycardium flavum*)呼吸排泄和免疫酶活性的影响. *渔业科学进展*, 2017, 38(2): 143–150]
- Wei XS, Hu TJ, Yang HZ, *et al.* Effects of streptococcus stress on biochemical indices and immune function in GIFT strain of Nile tilapia. *Chinese Journal of Fisheries*, 2014, 27(4): 29–34 [韦现色, 胡庭俊, 杨慧赞, 等. 链球菌胁迫对罗非鱼生化指标及免疫功能的影响. *水产学杂志*, 2014, 27(4): 29–34]
- Xie JJ, Xu WJ, Shi H, *et al.* Evaluation of hemato-immunological parameters in the swimming crab *Portunus trituberculatus* infected with low dose *Vibrio alginolyticus*. *Journal of Fisheries of China*, 2011, 35(9): 1392–1398 [谢建军, 许文军, 施慧, 等. 溶藻弧菌诱导对 3 疣梭子蟹血淋巴非特异性免疫水平的影响. *水产学报*, 2011, 35(9): 1392–1398]
- Xu ZH, Chen HZ, Chen M, *et al.* Effect of *Streptococcus iniae* vaccine on immune response of tilapia *Oreochromis niloticus*. *Journal of Dalian Ocean University*, 2008, 23(6): 413–418 [徐增辉, 陈汉忠, 陈明, 等. 海豚链球菌疫苗对罗非鱼免疫功能的影响. *大连水产学院学报*, 2008, 23(6): 413–418]
- Ye J, Xiao C, Yin XY, *et al.* Effect of nitrite on the non-specific immune responses of *Ctenopharyngodon idellus*. *Freshwater Fisheries*, 2013, 43(4): 40–44 [叶俊, 肖琛, 尹晓燕, 等. 亚硝态氮胁迫对草鱼非特异性免疫性能的影响. *淡水渔业*, 2013, 43(4): 40–44]
- Ye X, Li J, Lu MX, *et al.* Identification and molecular typing of

- Streptococcus agalactiae* isolated from pond-cultured tilapia in China. *Fisheries Science*, 2011, 77(4): 623–632
- Yin XL, Li ZJ, Yang K, *et al.* Effect of guava leaves on growth and the non-specific immune response of *Penaeus monodon*. *Fish and Shellfish Immunology*, 2014, 40(1): 190–196.
- Zenteno-Savin T, Saldierna R, Ahuejote-Sandoval M. Superoxide radical production in response to environmental hypoxia in cultured shrimp. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C Toxicology and Pharmacology*, 2006, 142(3): 301–308
- Zhao J, Wang L. Changes in serum indices of *Schizothorax prenanti* challenged with *Aeromonas hydrophila*. *Fisheries Science*, 2015, 34(3): 178–181 [赵静, 王利. 齐口裂腹鱼感染嗜水气单胞菌后血清指标的变化. *水产科学*, 2015, 34(3): 178–181]
- Zhu JJ, Huang DL, Fu Q, *et al.* Proteomic analysis of genetic improvement of farmed tilapia (GIFT) liver. *Current Proteomics*, 2015, 12(2): 137–142
- Zhu JJ, Li LP, Tang ZY, *et al.* Family establishment and disease resistance of different families of GIFT Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. *South China Fisheries Science*, 2012, 8(6): 22–27 [朱佳杰, 李莉萍, 唐瞻杨, 等. 吉富罗非鱼家系构建及抗病力检测. *南方水产科学*, 2012, 8(6): 22–27]

(编辑 冯小花)

## Effects of *Streptococcus agalactiae* Infection on Blood and Hepatopancreatic Tissue Biochemical Indices in Different Species of Tilapia

AO Qiuwei, LUO Yongju, LÜ Min, ZHU Jiajie<sup>①</sup>

(Guangxi Key Laboratory of Aquatic Genetic Breeding and Healthy Aquaculture,  
Guangxi Academy of Fishery Sciences, Nanning 530021)

**Abstract** Nonspecific immunity plays a vital role in pathogen infection in fish. The bacterium *Streptococcus agalactiae* is an important pathogen in tilapia cultivation, but its effects on tilapia blood and hepatopancreatic biochemical indices are unclear. We injected three strains of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) — a disease-resistant genetically improved farmed tilapia (GIFT) strain, a GIFT Baigui strain, and hybrid tilapia (*O. aureus* × *O. niloticus*) — with *S. agalactiae*, then monitored superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), acid phosphatase (ACP), phosphatase (AKP), lysozyme (LZM), and total antioxidant capacity (T-AOC) enzyme activities in blood and hepatopancreatic tissues. Mortality rates in the hybrid tilapia, GIFT disease-resistant strain, and GIFT Baigui strain were 55.4%, 60.5%, and 78.6%, respectively. Post-infection, enzyme activities of ACP, AKP, SOD, and T-AOC in hepatopancreatic tissues of all strains changed, first increasing then decreasing, and AKP and CAT activities after 24 h of infection were significantly higher in the hybrid tilapia than in the two GIFT strains. ACP, AKP, LZM, CAT and T-AOC enzyme activities in blood increased after infection, but SOD activity decreased; ACP, AKP, CAT and T-AOC activities in the hybrid strain were significantly higher than in the two GIFT strains. Using activity changes of the six enzymes and infection mortality rates, we identified AKP and CAT as potential indicators of streptococcal resistance in strains of tilapia.

**Key words** Tilapia; *Streptococcus agalactiae*; Immunity enzymes

① Corresponding author: ZHU Jiajie, E-mail: 724790058@qq.com