

不同年齡九孔的免疫力比較

許晉榮

行政院農業委員會水產試驗所海水繁養殖研究中心

摘 要

本實驗旨在調查 1~5 年齡九孔的免疫力，分析之免疫指標包括總血球數、血中總蛋白質量、酸性磷酸酶、鹼性磷酸酶、酚氧化酶及超氧歧化酶活性。實驗結果顯示，九孔的 2 年齡貝雖然在總血球數略低，但在 4 種與貝類免疫有關的酵素活性都是最高的；而 5 年齡貝的免疫力顯然是最低的，它在總血球數、血中總蛋白質量、酸性磷酸酶、鹼性磷酸酶、酚氧化酶活性等都居於末位。由於九孔有較高的免疫防禦力方能抵抗人工繁殖時所遇到的緊迫與病原感染，此外，免疫力較強的種貝通常可以產下更健康的後代，因此以 2 年齡貝作為種貝可能是較適當的選擇。

關鍵字：九孔、年齡、免疫力

前 言

九孔 (Small abalone, *Haliotis diversicolor*) 是台灣最主要的養殖貝類，多年來，它一直為台灣漁業帶來很高的經濟效益，然而近幾年卻陸續傳出九孔幼苗從附苗板上脫落死亡的事件，造成種苗供應短缺，間接地也影響成貝的養殖。造成落板的原因應是多原性的，主要的原因可能還是與疾病感染有關，病原物包括弧菌（如溶藻弧菌 *Vibrio alginolyticus*、腸炎弧菌 *V. parahaemolyticus*) (Lee *et al.*, 2001) 或疱疹樣病毒 (Herpes-like virus) (Chang *et al.*, 2005; 徐等, 2006)。此外，幼貝攝食之藻相的改變與數量不足、養殖水質不佳以及種貝品質不良也會助長落板率的發生 (楊等, 2003; 徐等, 2006)。因此，挑選適當種貝及增強幼貝抗病力應是目前提振九孔種苗生產的努力方向。

種貝品質對子代的影響通常是經由親體的基因型 (genotype) 與親方效應 (parental effect) 來產生，後者指雙親表現型 (phenotype) 對該子代表現型所造成的影響，其中來自母方的影響 (又稱母方效應, maternal effect) 通常又比來自父方的大，

理論上只要任何環境的變動會造成母方表現型的改變，包括型態、生理狀況和行為等皆屬之 (Bernado, 1996; Rossiter, 1996)。目前已有很多實驗證明，種鮑的確會因為品系、年齡、體型、營養狀況、所處環境等的差異 (林, 1984; 楊與丁, 1988; Rogers-Bennett *et al.*, 2004; Huchette *et al.*, 2004; 許等, 2005; Deng *et al.*, 2005; Fukuzawa *et al.*, 2005, 2007)，造成產卵數與所產幼貝品質及存活率的不同，此顯示親鮑的基因型與表現型的確會對子代的品質產生影響。

九孔屬於軟體動物 (mollusks)，缺乏脊椎動物具備的後天免疫系統 (adaptive immune system)，因此當外來病原 (病毒、細菌、寄生蟲) 入侵時，不是以產生抗體的方式，而是透過先天免疫系統 (innate immune system) 產生抗病力去對抗 (Bachère *et al.*, 1995; 劉與麥, 2003; 劉等, 2003; Hooper *et al.*, 2007)。這些非特異性免疫系統包括細胞性因子 (cellular effectors) 及體液性因子 (humoral effectors) 兩部份，細胞性因子主要指血球細胞 (hemocyte) 的作用，軟體動物的血球細胞依型態及構造，一般分為顆粒球 (granulocyte) 及透明球 (hyalinocyte) 兩大類 (Bachère *et al.*, 1995)，在九孔，因為貼附力強弱及吞嚥力有無，還可將顆粒球再細分為大、小兩種 (王, 2007)，血球細胞參與了貝類體內的傷口修復 (wound

*通訊作者 / 台南縣七股鄉三股村海埔四號, TEL: (06) 788-0461 轉 213; FAX: (06) 788-1597; E-mail: bporgy12@yahoo.com.tw

Table 1 Body weights and shell lengths of the 5 tested age groups of small abalone

Ages	Sizes	
	Body weight (g)	Shell length (mm)
1 year old	8.00 ± 0.31	41.60 ± 0.52
2 years old	16.12 ± 0.48	52.12 ± 1.17
3 years old	24.02 ± 1.15	59.26 ± 0.93
4 years old	26.13 ± 1.24	60.17 ± 0.82
5 years old*	23.04 ± 0.85	59.09 ± 0.62

N = 25, mean ± SEM.

*The abalone in 5 years old could be 5 -6 years old.

repair)、吞噬 (phagocytosis)、呼吸爆發 (respiratory burst)、包囊 (encapsulation)、炎症 (inflammation) 等反應 (Bachère *et al.*, 1995; 劉與麥, 2003; 王, 2007)。體液性因子係指由血淋巴液中種種溶解性因子所產生的抗病效果，這些因子包括溶小體酶 (lysosomal enzyme)、凝集素 (lectin)、抗菌肽 (antimicrobial peptide)、調理素 (opsonin) 等，其中很多是由血球細胞所產生釋放的，所以與其產生的免疫防禦也是相互聯繫的 (Bachère *et al.*, 1995; 劉與麥, 2003; 劉等, 2003; Hooper *et al.*, 2007)。在鮑類，餵食或注射免疫促進物質 (immunostimulants) 及營養物質都能提高這兩種免疫作用，進而加強對各種病原物的抵抗力 (張等, 2004; 萬等, 2004; Chen *et al.*, 2005; Macey and Coyne, 2005; 曾, 2006)。

在魚類，母魚可經由傳遞抗體、補體 (complement) 或其他的免疫因子至胚胎而提高卵或幼魚的抗病力 (Mulero *et al.*, 2007)，但貝類的母體免疫對幼貝抗病力的影響仍不清楚。許等 (2005) 之前的實驗顯示，以 1、2、3 年齡的九孔母貝作為種貝時，在仔貝生產量及變態後附苗總數，都是 2 年齡貝最佳，優於 1、3 年齡貝，此結果和楊與丁 (1988) 之結論相同。這是否與不同年齡九孔種貝的免疫力有關，值得進一步探討。因此在本實驗中，我們將分析 1~4 年齡及超過 4 年齡以上等五個年齡群九孔的細胞及體液免疫係數，瞭解其差異，以作為實際育種、養殖的參考。

材料與方法

本實驗採樣是在 2007 年 8 月，所使用之九孔為水產試驗所海水繁養殖研究中心所自行生產，

分別為 1、2、3、4 及超過 4 年齡者，共 5 個年齡群，各組體重及殼長列於 Table 1。其中超過 4 年齡者為 5 或 6 年齡 (以下皆簡稱 5 年齡貝)，因為存活數量較少，所以平常是混合共置於相同箱網內養殖，並未分開蓄養。在馴化過程中，每個箱網(44.5 × 33 × 15.5 cm) 內放 30 隻九孔，放於室內 200 公升方形 FRP 桶內，水桶聯接循環過濾系統。馴化期間兩星期，餵食之餌料為龍鬚菜 (*Gracilaria tenuistipitata*)，海水鹽度 28 psu，水溫 26~28 °C。

每個年齡組共採樣 25 隻九孔，測量體型後採血。血淋巴液抽取後，先測定總血球數 (total hemocyte count, THC)，方法如丁等 (1996)，從每一個血淋巴液樣本中抽出 100 µl 加入 300 µl 10% 中性福馬林固定液，再於顯微鏡 (200×) 下使用血球計數盤計算血球數，雙重覆，然後換算為 1 ml 血淋巴液的總血球數。剩下之血淋巴液在 4°C 下以 5,000 g，離心 15 分鐘後，取上清液，冷凍於 -85 °C 中，待日後進行蛋白質、酸性磷酸酶 (acid phosphatase, ACP)、鹼性磷酸酶 (alkaline phosphatase, ALP)、酚氧化酶 (phenoloxidase, PO) 及超氧歧化酶 (superoxide dimutase, SOD) 活性的分析。

血中蛋白質是以蛋白質折射器 (Hand Refractometer, Atago, Japan) 直接測定。酸性、鹼性磷酸酶 (Human Gesellschaft für Biochemica und Diagnostica mbH, Germany) 及超氧歧化酶活性 (Randox, U.K.) 都是以商用測試套組測之。酸性磷酸酶是以 1-naphthyl phosphate 為受質，水解生成之 1-naphthol 再與 4-chloro-2-methylphenyl diazonium salt 反應，轉成 azo dye，在 405 nm 下讀取，測定其活性，單位為 U/L。鹼性磷酸酶則利

用 *p*-nitrophenylphosphate 當受質，在 405 nm 下測定 *p*-nitrophenol 的生成，酵素活性單位同樣為 U/L。超氧歧化酶的測試套組混合液中含有 2-(4-iodophenyl)-3-(4-nitrophenol)-5-phenyltetrazolium chloride (I.N.T.) 及 xanthine，其中，xanthine 在加入 xanthine oxidase 作用後會產生超氧陰離子 (superoxide radical, O_2^-)，它會與 I.N.T. 快速生成 formazan dye，而超氧歧化酶則會與 I.N.T. 競爭超氧陰離子而抑制染劑的產生，經由光度比色器在 505 nm 下讀取此抑制反應程度，即可測定酵素活性，單位為 U/mL。酚氧化酶活性依 Chen *et al.* (2005) 之法修改測定，以 L-dihydroxyphenylalanine (L-DOPA) 為酵素受質，將上清液與 0.1 mol/L potassium phosphate 緩衝液 (pH 6.0) 及 0.01 M L-DOPA 等量混合，等待 10 分鐘後，在 490 nm 波長下讀取光密度質 10 分鐘，以 $O.D_{490nm}$ 對反應時間作圖，每 min^{-1} 增加 0.001 定度為一酵素活性單位 (U)。

用於分析不同免疫係數之樣品數不同，分析總血淋巴球數的樣品數為 25，分析蛋白質與酸性、鹼性磷酸酶活性之樣品數均為 20，分析酚氧化酶及超氧歧化酶活性者則為 16。各組數值先以變方分析 (one-way analysis, ANOVA) 檢驗，若達 5% 顯著差異，則再以特奇氏公正顯著差異法 (Tukey's honestly significant difference test, HSD) 加以檢定 (沈, 1995)。

結 果

五種不同年齡九孔種貝的免疫係數分析結果如 Fig. 1 所示。不同年齡九孔間總血球數、血漿中蛋白質、鹼性磷酸酶及酚氧化酶活性都有顯著差異 ($p < 0.05$)。總血球數以 4 年齡貝血球數最多 ($10.27 \times 10^6/mL$)，以下依次為 3、1、2 年齡貝，5 年齡最低 ($7.08 \times 10^6/mL$)。蛋白質量在 4.66 到 5.08 g/dL 之間，大小依序為 $3 > 2 > 4 > 1 > 5$ 。酸性、鹼性磷酸酶及酚氧化酶活性最高者都是 2 年齡貝，最低者則都是 5 年齡貝，其中，2 年齡貝的鹼性磷酸酶活性 (1.05 U/L) 幾乎是 5 年齡貝 (0.34 U/L) 的 3 倍，酚氧化酶活性 (3.93 U) 也是 5 年齡貝 (2.32 U) 的 1.7 倍左右。血中的超氧歧化酶活性也是以 2 年齡貝最高，以下依次為 $4 > 3 > 5 > 1$ ，但差異尚未達顯著水準 ($p > 0.05$)。

討 論

貝類的血球細胞可以透過吞噬或包囊作用來消滅細菌等外來物，也可以利用溶小體 (lysosome) 產生各種酵素產生強力的抗菌作用 (Bachère *et al.*, 1995; 劉與麥, 2003; 王, 2007); 因此，總血球數的多寡經常被用來顯示貝類的免疫力與健康狀況 (丁等, 1996; Malham *et al.*, 2003; 陳等, 2004; Cheng *et al.*, 2004 a, b, c, d; Macey and Coyne, 2005; Hooper *et al.*, 2007)。陳等 (2004) 的研究結果顯示，抗病力較強的台灣九孔總血球數高於抗病力較弱的福建類群。不過除了總數以外，不同種類血球在血球的比例與分佈也會影響九孔的細胞免疫力 (溫, 2005; 王, 2007)。王 (2007) 將九孔的血球分為大、小顆粒球及透明球三種，其研究結果顯示，具吞噬酵母多醣 (zymosan) 能力的只有小顆粒球及透明球，大顆粒球則無；三種血球細胞都具有溶小體，而以透明球最多，大顆粒球最少，王 (2007) 認為這 3 種細胞中，可能以小顆粒球的免疫力最強。在本實驗中，我們分析總血球數的方法是先以中性福馬林固定後，未經染色即加以計數，因此無法區分出不同血球種類及計算其比例。本實驗中之 2 年齡貝的總血球數雖不多但體液免疫力較高，由於體液免疫中很多酵素是由血球細胞溶小體所釋放，是否 2 年齡貝的總血球數中透明球及小顆粒球比例較多，大顆粒球較少？其整體細胞免疫力的強弱為何？仍待進一步的研究。

酸性、鹼性磷酸酶都屬於水解酶，不僅可在血球細胞的溶小體內水解物質，也可以釋放到血漿中，在細胞吞噬外來物前就將其部分水解 (劉等, 2003)。本實驗之 2 年齡九孔的鹼性磷酸酶活性顯著高於 3~5 年齡貝，且數值在 2 倍以上；與 1 年齡貝間雖無顯著性差異，但活性是 1 年齡貝的 1.75 倍。由溫 (2005) 及王 (2007) 的實驗顯示，九孔的三種血球細胞中都沒有發現鹼性磷酸酶，因此九孔的鹼性磷酸酶顯然是來自血漿或其他細胞。在面臨腸炎弧菌或病毒感染時，九孔的鹼性磷酸酶活性都會升高 (Wang *et al.*, 2004; 王等, 2005)，顯示此酵素活性的增加的確有助於提升九孔的抗病力。酸性磷酸酶是貝類最重要的水解酶 (Bachère *et al.*, 1995; 劉等, 2003; 劉與麥, 2003; 王, 2007)，因此病原的感染也會促使九孔體內酸性

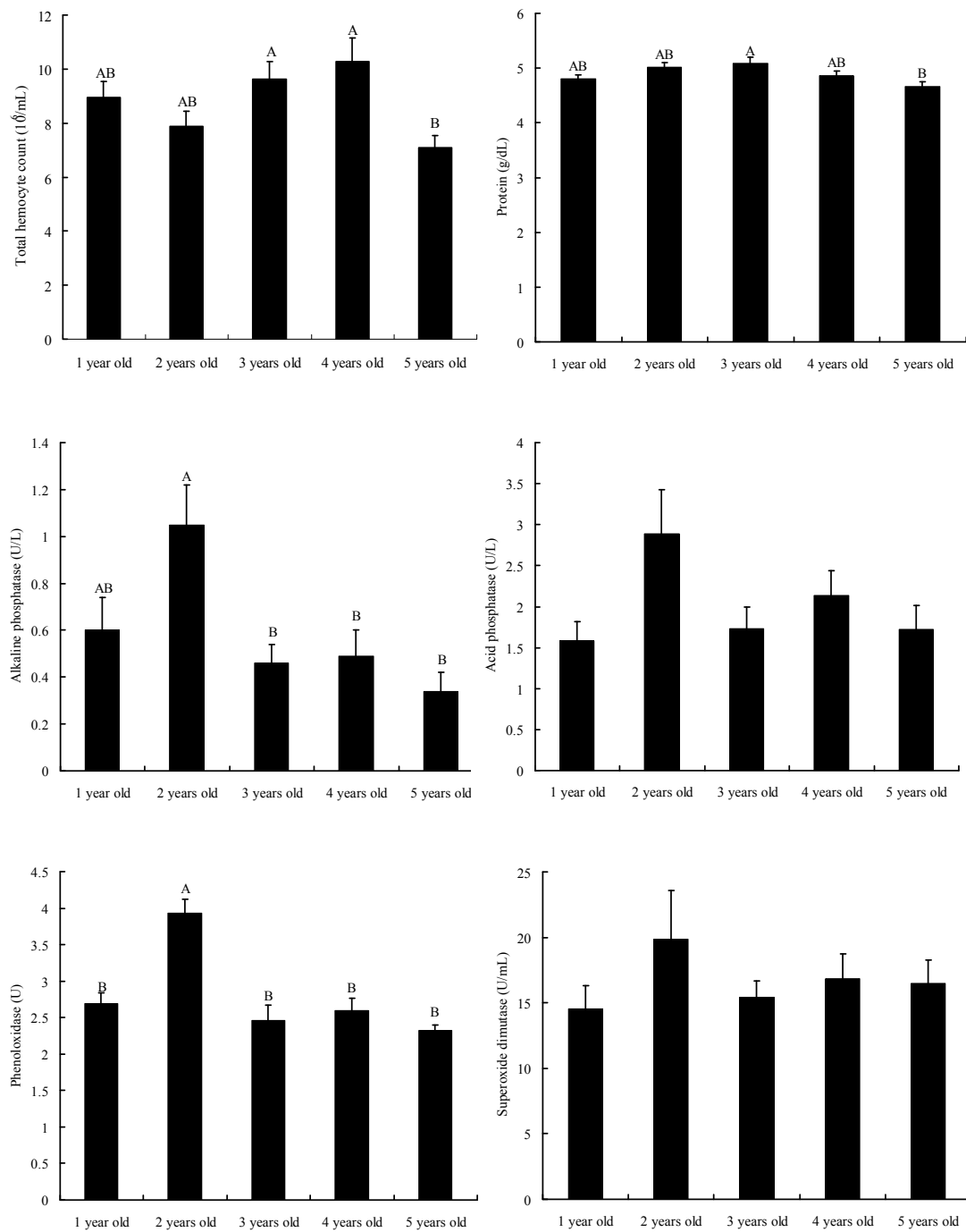


Fig. 1 Immune activities (THC, protein content, ALP, ACP, PO, SOD) of the 5 age groups of small abalone.

磷酸酶活性上升 (Wang *et al.*, 2004; 王等, 2005), 在本實驗中, 如同鹼性磷酸酶活性一樣, 2 年齡九孔的酸性磷酸酶活性也較其他諸齡貝高 1.35 ~ 1.83 倍, 但差異水準只在顯著邊緣 ($p = 0.057$)。九孔血球細胞中, 酸性磷酸酶僅在小顆粒球及透明球被發現, 又以後者活性較高 (王,

2007), 因此推測體液中的酸性磷酸酶除了來自血漿或其他細胞外, 有可能部份是來自小顆粒球及透明球。

超氧歧化酶做為活性氧清除劑參與清除體內自由基 O_2^- 和 H_2O_2 , 以消除 O_2^- 等的中間產物對細胞的危害, 並能增強吞噬細胞的防禦能力和機體

的免疫功能 (劉等, 2003)。酚氧化酶則是以非活態的原酚氧化酶 (prophenoloxidase) 存在於貝類血球及血漿中, 在微生物多醣體、環境因子或金屬離子等的誘發下, 原酚氧化酶經過酵素系統作用轉變成活化的酚氧化酶, 它可以將 mono-/di-phenol 轉化成 quinol, 再聚合成有毒的黑色素 (melanin), 去除外來物 (Deaton *et al.*, 1999; Luna-González *et al.*, 2003; Chen *et al.*, 2005; Muñoz *et al.*, 2006; Hooper *et al.*, 2007)。陳等 (2004) 的實驗結果顯示, 抗病力較強的台灣九孔血漿中超氧歧化酶及酚氧化酶活性都高於抗病力較弱的福建類群。本實驗中, 2 年齡九孔血漿中的超氧歧化酶活性雖高於其他四種年齡貝, 但並沒有達顯著差異 ($p > 0.05$); 但酚氧化酶活性則顯著高於其他年齡貝 ($p < 0.05$)。本實驗測定酚氧化酶活性的方法和丁等 (1996)、陳等 (2004)、Chen *et al.* (2005) 的方法相同, 並未添加胰蛋白酶 (trypsin)、藻酸鈉 (sodium alginate)、褐藻多醣 (laminarin)、葡聚多糖 (glucan) (Cheng *et al.*, 2004, a, b, c, d; 曾, 2006) 等去刺激血中之原酚氧化酶轉變為酚氧化酶, 因此所顯現的酵素活性應該就是各年齡九孔血漿中平常的酚氧化酶活性以及其所代表的免疫力。

總結以上結果, 2 年齡九孔的總血球數略低於其他年齡貝, 但四種與貝類免疫有關的酵素活性都是最高的, 顯示此年齡群應有其生存優勢, 此親方效應可能也是其較適作為種貝的原因。而 5 年齡貝的免疫力顯然是最低的, 由血中總蛋白質量的比較, 顯示其較低的酵素活性可能是因為血中酵素含量較少所致。老化 (aging) 可能造成 5 年齡貝的整體免疫力下降, 以致在緊迫環境有所變化, 例如鹽度變化、溫度升高、水中溶氧或含氮物質濃度改變, 以及病原感染時, 都是最易爆發死亡的一群 (Hooper *et al.*, 2007), 同時此年齡群可能也無法耐受人工育種時曝曬及高低溫處理的緊迫 (陳與楊, 1979), 因此建議不要選用超過 4 年齡以上的九孔作為育種用的種貝。

謝 辭

本研究承行政院農業委員會 97 農科-15.2.1-水-A4(3) 經費補助, 屏東科技大學水產養殖系吳冠瑛同學, 本中心葉主任信利及劉君誠、吳承懷

兩位先生之協助, 本所水產養殖系張副研究員錦宜及國立高雄海洋科技大學海洋生物技術系蔡助理教授志明對本文初稿之指正, 特此一併致謝。

參考文獻

- 丁秀雲, 李光友, 翟玉梅 (1996) 皺紋盤鮑經誘導後血淋巴液中一些因子變化的研究. 海洋與湖沼, 27(4): 362-367.
- 王江勇、郭志勛、馮娟、潘金培、陳華生 (2005) 病毒感染後雜色鮑部分血清免疫因數的變化. 中國水產科學, 12: 344-347.
- 王麗嘉 (2007) 台灣鮑三種血球細胞型態功能之初步研究. 國立台灣海洋大學碩士論文, 基隆.
- 沈明來 (1995) 處理均值比較測驗. 在: 試驗設計學. 眾光文化事業有限公司, 臺北, pp. 49-67.
- 林天生 (1984) 九孔人工繁養殖研究. 台灣省水產試驗所試驗報告, 36: 129-133.
- 徐力文, 王江勇, 陳畢生 (2006) 我國南方鮑養殖業的困境與發展探討. 湛江海洋大學學報, 26(4): 100-104.
- 張建誠, 張峰, 王吉橋 (2004) 4 種多糖對皺紋盤鮑血球細胞活性氧和血清凝集活力的影響. 中國水產科學, 11: 147-153.
- 許晉榮, 劉君誠, 黃文彬, 林明男 (2005) 不同年齡九孔產卵情況及其所產幼貝存活率之比較. 水試專訊, 10: 18-20.
- 陳弘成, 楊鴻禧 (1979) 九孔之人工繁殖. 中國水產, 314: 3-9.
- 陳政強, 陳昌生, 戰文斌, 黃捷, 陳楊敏, 林建成 (2004) 不同類群九孔免疫防禦機能的比較. 水產學報, 28: 189-194.
- 曾子渝 (2006) 葡聚多糖對台灣鮑非特異免疫之影響. 國立台灣海洋大學碩士論文, 基隆.
- 楊鴻禧, 丁雲源 (1988) 貝類繁養殖試驗-九孔種貝池中培育. 台灣省水產試驗所試驗報告, 44: 199-202.
- 楊鴻禧, 李榮涼, 陳敏隆, 丁雲源 (2003) 台灣南部九孔幼生病害原因之調查研究. 水產試驗所特刊第 1 號: 九孔種苗生產疾病防治 (丁雲源, 楊鴻禧主編), 行政院農業委員會水產試驗所, 基隆, 1-20.
- 溫鈺涓 (2005) 九孔血球細胞型態與鋅鎘對血球免疫相關反應之探討. 國立台灣海洋大學碩士論文, 基隆.
- 萬敏, 麥康森, 馬洪明, 徐瑋, 劉付志國 (2004) 硒和維生素 E 對皺紋盤鮑血清抗氧化酶活力的影響. 水生生物學報, 28: 496-503.
- 劉世良、麥康森 (2003) 貝類免疫系統和機理的研究進展. 海洋學報, 25: 95-105.
- 劉志鴻, 牟海津, 王清印 (2003) 軟體動物免疫相關酶研究進展. 海洋水產研究, 24: 86-90.

- Bachère, E., E. Mialhe, D. Noël, V. Boulo, A. Morvan and J. Rodriguez (1995) Knowledge and research prospects in marine mollusk and crustacean immunology. *Aquaculture*, 132: 17-32.
- Bernardo, J. (1996) Maternal effects in animal ecology. *Amer. Zool.*, 36: 83-105.
- Chang, P. H., S. T. Kuo, S. H. Lai, H. S. Yang, Y. Y. Ting, C. L. Hsu and H. C. Chen (2005) Herpes-like virus infection causing mortality of cultured abalone *Haliotis supertexta* in Taiwan. *Dis Aquat. Org.*, 65: 23-27.
- Chen, H., K. Mai, W. Zhang, Z. Liufu, W. Xu and B. Tan (2005) Effects of dietary pyridoxine on immune responses in abalone, *Haliotis discus hannai* Ino. *Fish Shellfish Immunol.*, 19: 241-252.
- Cheng, W., I. S. Hsiao, C. H. Hu and J. C. Chen (2004a). Effect of ammonia on the immune response of Taiwan abalone *Haliotis diversicolor supertexta* and its susceptibility to *Vibrio parahaemolyticus*. *Fish Shellfish Immunol.*, 17: 193-202.
- Cheng, W., I. S. Hsiao, C. H. Hu and J. C. Chen (2004b). Change in water temperature on the immune response of Taiwan abalone *Haliotis diversicolor supertexta* and its susceptibility to *Vibrio parahaemolyticus*. *Fish Shellfish Immunol.*, 17: 235-243.
- Cheng, W., F. M. Jung and J. C. Chen (2004c). The immune response of Taiwan abalone *Haliotis diversicolor supertexta* and its susceptibility to *Vibrio parahaemolyticus* at different salinity levels. *Fish Shellfish Immunol.*, 16: 295-306.
- Cheng, W., C. S. Li and J. C. Chen (2004d). Effect of dissolved oxygen on the immune response of Taiwan abalone *Haliotis diversicolor supertexta* and its susceptibility to *Vibrio parahaemolyticus*. *Aquaculture*, 232: 103-115.
- Deaton, L. E., P. J. Jordan, and J. R. Dankert (1999) Phenoloxidase activity in the hemolymph of bivalve mollusks. *J. Shellfish Res.*, 18: 223-226.
- Deng, Y., X. Liu, G. Zhang and X. Guo (2005) Inbreeding depression and maternal effects on early performance of Pacific abalone. *N. Am. J. Aquacult.*, 67: 231-236.
- Fukazawa, H., H. Takami, T. Kawamura and Y. Watanabe (2005) The effect of egg quality on larval period and postlarval survival of an abalone *Haliotis discus hannai*. *J. Shellfish Res.*, 34: 1141-1147.
- Fukazawa, H., T. Kawamura, H. Takami and Y. Watanabe (2007) Oogenesis and relevant changes in egg quality of abalone *Haliotis discus hannai* during a single spawning season. *Aquaculture*, 270: 265-275.
- Hooper, C., R. Day, R. Slocombe, J. Handlinger and K. Benkendorff (2007) Stress and immune response in abalone: Limitations in current knowledge and investigative methods based on other models. *Fish Shellfish Immunol.*, 22(4): 363-379.
- Huchette, S. M. H., J. P. Souldard, C. S. Koh and R. W. Day (2004) Maternal variability in the blacklip abalone, *Haliotis rubra* leach (Mollusca: Gastropods): effect of egg size on fertilisation success. *Aquaculture*, 231: 181-195.
- Lee, K. K., P. C. Liu, Y. C. Chen and C. Y. Huang (2001) The implication of ambient temperature with the outbreak of vibriosis in cultured small abalone *Haliotis diversicolor supertexta* Lischke. *J. Thermal Biol.*, 26: 585-587.
- Luna-González, A., A. N. Maeda-Martínez, F. Vargas-Albores, F. Ascencio-Valle and M. Robles-Mungaray (2003) Phenoloxidase activity in larval and juvenile homogenates and adult plasma and hemocytes of bivalve mollusks. *Fish Shellfish Immunol.*, 15: 275-282.
- Macey, B. M. and V. E. Coyne (2005) Improved growth rate and disease resistance in farmed *Haliotis midae* through probiotic treatment. *Aquaculture*, 245: 249-261.
- Malham, S. K., A. Gélébart, A. Cueff and S. A. Poulet (2003) Evidence for a direct link between stress and immunity in the mollusc *Haliotis tuberculata*. *J. Exp. Zool.*, 295A: 136-144.
- Mulero, I., A. García-Ayala, J. Meseguer, and V. Mulero (2007) Maternal transfer of immunity and ontogeny of autologous immunocompetence of fish: a review. *Aquaculture*, 268: 244-250.
- Muñoz, P., J. Meseguer and M. A. Esteban (2006) Phenoloxidase activity in three commercial bivalve species. Change due to natural infestation with *Perkinsus atlanticus*. *Fish Shellfish Immunol.*, 20: 12-19.
- Rogers-Bennett, L., R. F. Dondanville and J. Kashiwada (2004) Size specific fecundity of red abalone (*Haliotis rufescens*): evidence for reproductive senescence? *J. Shellfish Res.*, 23: 553-560.
- Rossiter, M. (1996) Incidence and consequences of inherited environmental effects. *Annu. Rev. Ecol. Syst.*, 27: 451-476.
- Wang, S. H., T. E. Wang, Z. X. Zhang, J. Ralph, Z. H. Weng, Z. H. Zou and Z. P. Zhang (2004) Response of immune factors in abalone *Haliotis diversicolor supertexta* to pathogenic or nonpathogenic infection. *J. Shellfish Res.*, 23: 1173-1177.

Comparison in Immune Activities among Different Age Groups of Small Abalone (*Haliotis diversicolor*)

Jinn-Rong Hseu

Mariculture Research Center, Fisheries Research Institute

ABSTRACT

The work examined the immune activities among 5 age groups of small abalone (*Haliotis diversicolor*), i.e., 1 year old to 5 years old. The analyzed immune parameters in this study included total hemocyte count (THC), protein content in plasma, and humoral enzyme activities of acid phosphatase (ACP), alkaline phosphatase (ALP), phenoloxidae (PO), superoxide dimutase (SOD). The results showed that 2 years old abalone had the highest enzyme activities in ACP, ALP, PO and SOD but with lower THC. The 5 years old abalone had the lowest THC, protein content, and enzyme activities of ACP, ALP, and PO. We proposed that the abalone with higher immune activities may resist the stress and pathogen infection more effectively during artificial breeding. In addition, there was a positive relationship between parental immunity and offspring health. Thus, the study suggested that the 2 years old abalone could be a better broodstock among the 5 age groups of abalone.

Key words: abalone, age, immune activity