

免疫多糖对日本蟳溶菌酶和超氧化物歧化酶活性的影响

周 伟¹, 徐善良^{1,2*}, 石 灏¹

(1. 宁波大学 海洋学院, 浙江 宁波 315211; 2. 宁波大学 应用海洋生物技术教育部重点实验室, 浙江 宁波 315211)

摘要: 通过对日本蟳(*Charybdis japonica*)进行免疫多糖、免疫多糖+溶藻弧菌、溶藻弧菌、生理盐水 4 种方法的处理, 测定日本蟳肝胰腺及肌肉中溶菌酶(LZM)和超氧化物歧化酶(SOD)的活性变化, 探讨免疫多糖对日本蟳溶菌酶和超氧化物歧化酶活性的影响。结果表明: 日本蟳肝胰腺中 LZM 和 SOD 的酶活均高于肌肉中的酶活, 且免疫多糖对肝胰腺的免疫增强效应显著高于肌肉; 免疫多糖组肝胰腺和肌肉中 LZM 酶活, 在注射后 24 h 时显著升高至峰值($P < 0.05$), 分别为 $(11.2 \pm 2.78) \text{ U} \cdot \text{mg}^{-1}$ 和 $(3.75 \pm 1.05) \text{ U} \cdot \text{mg}^{-1}$; SOD 酶活也在 24 h 达到最高值, 分别是对照组的 2.2 倍和 1.4 倍; 免疫多糖+溶藻弧菌组在 72 h 时, 肝胰腺和肌肉中的 LZM 酶活分别高出溶藻弧菌组 62.8% 和 75.2%, 2 个组织中 SOD 酶活同样显著高于溶藻弧菌组($P < 0.05$), 是溶藻弧菌组的 3.5 倍和 4.2 倍。由此可见, 免疫多糖对日本蟳免疫功能有增强作用, 可以提高日本蟳的抗病能力。

关键词: 日本蟳; 免疫多糖; 溶菌酶; 超氧化物歧化酶; 免疫增强

中图分类号: Q956

文献标志码: A

文章编号: 1001-5132 (2013) 03-0017-05

日本蟳(*Charybdis japonica*)隶属甲壳纲、梭子蟹科、蟳属, 俗称海蟳、石蟹等, 是一种食用价值较高的经济海洋蟹类, 其肉味鲜美、营养丰富、生长快, 是具有很好开发前景的养殖种类。但日本蟳因细菌和病毒引起的传染性疾病日渐增多, 给日本蟳的养殖造成了很大困扰。

甲壳动物无特异性免疫, 体液中不能产生免疫球蛋白, 缺乏抗体介导的特异性反应, 但它们能通过非特异性免疫反应清除入侵异物。这主要依靠血淋巴中的一些酶(如溶菌酶、酚氧化酶、超氧化物歧化酶等)、免疫因子(如凝集素、溶血素等)以及调节因子(如酚氧化酶原)激活系统等^[1]。免疫多糖(酵母细胞壁)是一种非特异性免疫激活剂, 通过激活巨噬细胞和补体、促进抗体形成及诱导干扰素等而增强机体的细胞免疫和体液免疫功能^[2-3]。不仅可用于鱼类的免疫增强^[4-5], 也一直作为甲壳动物病害防控较为有效的免疫增强剂而备受重视^[6-7]。近年来, 免疫多糖在提高虾蟹免疫能力, 预防由细菌和病毒引起的疾病方面的研究报道较多^[8-12]。

Supphantharika 等^[8]利用酵母 β 多糖饲喂斑节对虾(*Penaeus monodon*), 发现酵母 β 多糖可以作为免疫增强剂提高斑节对虾血淋巴中 PO 的活性。陈昌福等^[9]对凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)注射免疫多糖后能显著提高血清、肌肉和肝胰腺中的酸性磷酸酶(ACP)、碱性磷酸酶(ALP)及过氧化物酶(POD)的活性, 增强抗哈维弧菌(*Vibrio harveyi*)感染的能力。徐镇等^[10]通过对中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)口服和注射免疫多糖, 发现免疫多糖能增强中华绒螯蟹的存活率。许第新等^[11]发现注射免疫多糖的克氏原螯虾(*Procambarus clarkii*)肝胰腺中的 ACP、ALP 活性明显增加。王洪斌等^[12]观察到注射海洋红酵母多糖 48 h 内, 日本蟳血清中免疫活性因子均有不同程度的提高, 但其未做进一步的攻毒试验。有关日本蟳注射免疫增强剂后, 再感染溶藻弧菌(*Vibrio alginolyticus*)的研究尚未见报道。因此, 笔者通过对日本蟳注射免疫多糖、溶藻弧菌(攻毒组)以及免疫多糖+溶藻弧菌 3 个处理后, 研究免疫多糖对日本蟳溶菌酶和超氧化物歧化酶活性的影

收稿日期: 2013-02-07.

宁波大学学报(理工版)网址: <http://journalg.nbu.edu.cn/>

基金项目: 浙江省科技厅创新团队项目(2010R50029); 宁波市创新团队项目(2011B81003)。

第一作者: 周 伟(1987-), 男, 河南信阳人, 在读硕士研究生, 主要研究方向: 海洋生物学。E-mail: holmeszhou@foxmail.com

*通信作者: 徐善良(1962-), 男, 浙江舟山人, 副研究员, 主要研究方向: 海洋生物学。E-mail: xushanliang@nbu.edu.cn

响,并进一步探讨了免疫多糖对提高日本蟳抗病能力的作用,为日本蟳在养殖生产中的防病、抗病提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验材料

从宁波市水产码头购买附肢完整、活力强、大小均匀的野生日本蟳 100 只,平均甲长为 (7.70 ± 0.80) cm,均重为 (80.7 ± 5.6) g。实验前暂养适应 2 周,水温 $21 \sim 23$ °C,每天吸污,保持池水清洁。为避免其相互争斗采取单个笼养。

实验所用免疫多糖(酵母细胞壁多糖)从湖北安琪酵母有限公司购得。该产品中主要成分为 β -葡聚糖 $\geq 29\%$, α -甘露聚糖肽 $\geq 20\%$,几丁质 $\geq 2\%$,肽类及蛋白质 $\geq 30\%$ 。实验用其他试剂或药品均为国产分析纯。

1.2 实验设计

用无菌生理盐水分别配制浓度为 0.5%、1.0%、1.5% 的免疫多糖溶液,高压灭菌后置 4 °C 冰箱备用。经预实验发现 0.5% 的免疫多糖溶液比较适合。实验分 4 组,每组 3 个重复,每一重复 5 只蟹。第 1 组注射 0.5% 生理盐水作为对照;第 2 组为免疫组,注射 0.5% 浓度的免疫多糖;第 3 组为攻毒组,注射 4.25×10^8 cfu·mL⁻¹ 的溶藻弧菌;第 4 组为免疫攻毒组,先注射 0.5% 免疫多糖 24 h 后,再注射上述相同浓度的溶藻弧菌。各组均于日本蟳第 3 步足基膜处每只注射 0.15 mL 剂量。每组(免疫攻毒组以 24 h 后为注射 0 h)分别在注射前(0 h)及注射后的 12、24、72 h 各取 3 只蟹解剖,取肝胰腺、肌肉并立即 -20 °C 冷冻,以备测定 LZM 及 SOD 的活性。

1.3 实验方法

(1) 组织匀浆液制取。分别取日本蟳的肝胰腺和肌肉,生理盐水冲洗,用洁净的吸水纸吸去表面

水分,并分别称取 0.5 g 组织块,冰浴中匀浆,加入无菌生理盐水,使其浓度达到 $0.1 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$,于 4 °C $4\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min 后,取上清液备用。

(2) 溶菌酶活性的测定。用南京建成生物研究所生产的溶菌酶试剂盒测定。利用 $0.25 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的混浊菌液,由于溶菌酶能水解细菌细胞壁上肽聚糖使细菌裂解而浓度降低,透光度增强,根据透光度的变化来计算溶菌酶的含量。溶菌酶活力单位定义为在 OD₄₅₀ 每下降 0.001 为 1 个酶活力单位(U·mg⁻¹)。肝胰腺和肌肉组织匀浆液每个时间处理组进行 3 次平行测试。

(3) SOD 活性的测定。用南京建成生物研究所生产的试剂盒,采用黄嘌呤氧化酶法测定 SOD 活性,通过黄嘌呤及黄嘌呤氧化酶反应体系产生超氧阴离子自由基(O²⁻),后者氧化羟胺形成亚硝酸盐,在显色剂的作用下呈现紫红色,用分光光度计测其吸光度值,通过公式计算求出被测样品中的 SOD 活力。SOD 酶活性定义为 1 cm³ 反应液中 SOD 抑制率达 50% 时所对应的 SOD 量为一个酶活力单位(U·mg⁻¹)。肝胰腺和肌肉组织匀浆液每个时间处理组进行 3 次平行测试。

1.4 数据统计与处理

试验数据以平均值±标准差表示,采用 SPSS 17.0 软件进行数据统计分析,用 One-Way ANOVA 法进行显著性检验,用 Duncan 检验法进行多重比较。

2 结果与分析

2.1 对肝胰腺和肌肉中溶菌酶活性的影响

4 个处理组的肝胰腺和肌肉中的 LZM 活性变化如图 1 和图 2 所示,图中采用 Duncan 氏新复极差检验法, $n=3$, a、b、c、d 表示同一组别中不同时间段有显著性差异; A、B、C、D 表示同一时间段中不同处理组间有显著性差异($P<0.05$),以下图同。

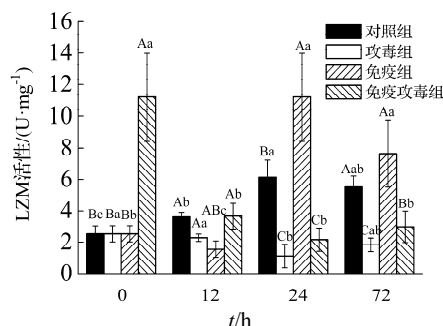


图1 免疫多糖对日本蟳肝胰腺中溶菌酶的影响

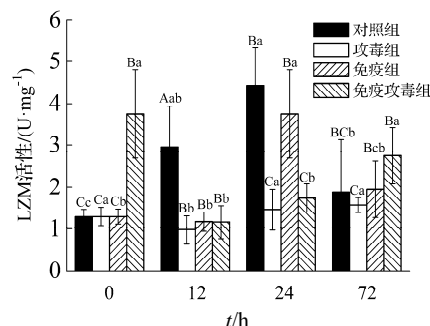


图2 免疫多糖对日本蟳肌肉中溶菌酶的影响

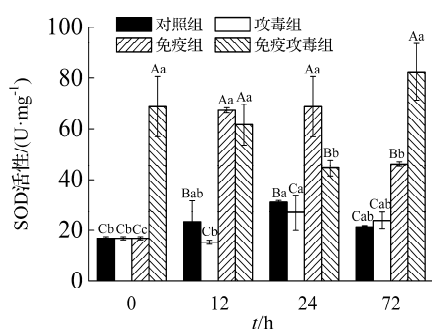


图3 免疫多糖对日本蟬肝胰腺中超氧化物歧化酶的影响

图1显示,注射溶藻弧菌的攻毒组,其肝胰腺中LZM相比对照组显著降低,且随时间的延长与对照组差异增大($P<0.05$),72 h时酶活力仅为对照组的1/3;而免疫组的LZM在24 h时显著升高至 $(11.2\pm 2.78) \text{ U}\cdot\text{mg}^{-1}$ ($P<0.05$),是对照组近2倍,随后出现下降,72 h时与对照组无显著差异。经免疫再攻毒组,LZM表现为12 h时酶活迅速下降为起始值的1/3,此后继续有所下降,但72 h时显著高于攻毒组($P<0.05$),比攻毒组提高62.8%。

图2显示,肌肉中LZM活力的初始值仅为肝胰腺中的1/2,且各处理组酶活变化较为平稳,但也呈现相似的规律。攻毒组在12 h和24 h时,肌肉中LZM酶活显著低于对照组($P<0.05$),两者仅约为对照组的33%,72 h时有所升高,与对照组无显著差异;而免疫组的LZM活力12 h内表现稳定,在24 h时显著上升至峰值,达 $(3.75\pm 1.05) \text{ U}\cdot\text{mg}^{-1}$,随后活力又显著降低($P<0.05$);免疫攻毒组LZM活力变化与肝胰腺的免疫攻毒组一致,但酶活下降幅度较小,72 h时显著高于对照组和攻毒组,分别提高46.3%和75.2%。

2.2 对肝胰腺和肌肉中超氧化物歧化酶的影响

4个处理组的肝胰腺和肌肉中的SOD活性变化如图3和图4所示。从图3可见,攻毒组的肝胰腺中SOD在12 h和24 h时酶活显著低于对照组($P<0.05$),分别为对照组的65%和87%,72 h略高于对照组;免疫组的SOD活力在免疫注射后的12 h迅速升高至 $(67.37\pm 1.01) \text{ U}\cdot\text{mg}^{-1}$,是对照组的2.6倍,此后继续保持较高的酶活,24 h为对照组的2.2倍;免疫攻毒组的肝胰腺中SOD活力在12 h时为 $(61.65\pm 8.07) \text{ U}\cdot\text{mg}^{-1}$,是对照组的2.6倍,是攻毒组的4倍,增强效应极显著,随后有所降低,但72 h时活力高达 $(82.43\pm 11.08) \text{ U}\cdot\text{mg}^{-1}$,极显著高于对照组和攻毒组($P<0.01$),是攻毒组的3.5倍。

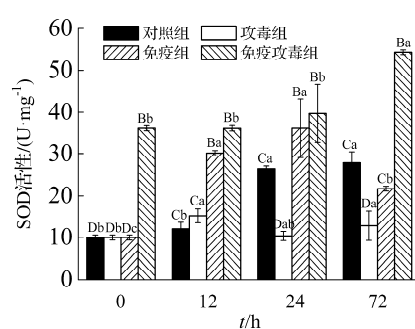


图4 免疫多糖对日本蟬肌肉中超氧化物歧化酶的影响

从图4可见,肌肉中初始SOD酶活为 $(9.97\pm 0.60) \text{ U}\cdot\text{mg}^{-1}$,低于肝胰腺中的SOD初始酶活。攻毒组肌肉中的SOD活力在12 h后显著低于对照组($P<0.01$),不足对照组的1/2水平;免疫组的肌肉中SOD酶活,在12 h和24 h时显著增强至对照组的2.5倍和1.4倍,24 h后活力显著减弱($P<0.05$),与对照组无差异;免疫攻毒组肌肉中SOD酶活72 h内维持 $(36.11\pm 7.05)\sim(54.23\pm 0.36) \text{ U}\cdot\text{mg}^{-1}$,显著高于对照组和攻毒组($P<0.01$),是攻毒组的4.2倍。

3 讨论

3.1 免疫多糖对日本蟬LZM和SOD酶活的增强效果

LZM是一种碱性蛋白,非特异性免疫因子的主要成分能水解革兰氏阳性细菌的细胞壁中粘肤的乙酰氨基多糖并使之裂解被释放出来,形成一个水解酶体系,也是吞噬细胞杀菌的物质基础,能破坏和消除侵入体内的异物,从而担负起机体防御的功能,在动物免疫活动中发挥着重要作用,溶菌活力可以作为检测虾蟹机体免疫功能状态的一个参考指标^[13]。SOD是一种重要的抗氧化酶,作为活性氧清除剂参与清除体内的自由基,SOD的活性与生物的免疫水平密切相关,对于增强吞噬细胞的防御能力和整个机体的免疫功能有重大作用。

本实验结果显示,日本蟬注射免疫多糖后,免疫组的肝胰腺中LZM表现出先降后大幅升高的现象,在24 h达到最高酶活水平,72 h与对照组无显著差异,这个结果与王洪斌等^[12]研究的日本蟬血清中LZM酶活变化十分相似。谭夕东等^[14]对中华绒螯蟹(*E. sinensi*)注射海藻酸钠也表现出实验组LZM活性显著高于对照组,说明免疫多糖对日本蟬免疫活性酶LZM的活性有明显的刺激诱导作用,激发了日本蟬肝胰腺的溶菌酶免疫应答体系;而

肌肉中的 LZM 与对照组基本一致,表明免疫多糖刺激下 LZM 的免疫反应在肌肉中表达不显著,印证了肝胰腺是机体的重要解毒器官。

免疫组的肝胰腺和肌肉组织中 SOD 酶活也出现了剧烈的变化,12 h 时迅速升高,也在 24 h 达到酶活峰值,都显著高于对照组,这与沈锦玉等^[15]对中华绒螯蟹的结论一致,与余水法等^[16]添加梯度浓度 β -葡聚糖的基础饲料投喂中华绒螯蟹的 0.5% 组 SOD 活性相似。可见免疫多糖作为免疫增强剂具有刺激日本鳊的非特异性免疫功能的作用,增强了防御系统。此后 SOD 酶活趋于下降,而且肝胰腺中 SOD 酶活的变化更加强烈。可以推断,肝胰腺的免疫增强效应显著高于肌肉中。

可见 LZM 和 SOD 免疫相关酶,在日本鳊肝胰腺和肌肉组织中的表达具有明显的组织特异性,而且在同一组织中, LZM 和 SOD 酶活没有表现出明显的相关性,只是均表现为肝胰腺中酶活高于肌肉中的酶活。这是因为肝胰腺在甲壳动物的消化、代谢、吸收以及解毒等过程中起到重要的作用,免疫相关酶表达较为强烈,而肌肉组织的生理功能较为单一,酶活表达较弱。

3.2 免疫多糖对日本鳊抗溶藻弧菌能力的影响

比较攻毒组和免疫攻毒组肝胰腺和肌肉中的 LZM 变化(图 1 和图 2),可发现经溶藻弧菌攻毒后,日本鳊肝胰腺和肌肉组织中的 LZM 活性都是先稍有上升,后活性下降,且攻毒组肝胰腺和肌肉组织中 LZM 酶活皆显著低于对照组,这与黄旭雄等^[17]对中国明对虾(*Fenneropenaeus chinensis*)哈维弧菌(*V. harvey*)感染结果一致。Wang 等^[18]对凡纳滨(*L. vannamei*)对虾感染溶藻弧菌(*V. alginolyticus*)的结果也表明了这一点。而陈萍^[19]对三疣梭子蟹(*Portunus trituberculatus*)注射溶藻弧菌的研究表明,24 h 稍高于对照组,但随着感染时间的延长, LZM 活性明显低于对照组。这是因为强烈的免疫反应使机体中的 LZM 大量消耗,说明溶藻弧菌也能适当诱导溶菌活力,但其诱导能力较弱,也许是在日本鳊中表现不明显。12~24 h 及 72 h 时肌肉、肝胰腺中免疫攻毒组 LZM 活性均高于攻毒组。这些说明注射 0.5% 免疫多糖后,日本鳊再感染溶藻弧菌,肌肉、肝胰腺中 LZM 活性会增强,从而加强机体的免疫功能,使得机体更好地抵御病害侵入。

由图 3 和图 4 可知,经溶藻弧菌攻毒后,肌肉、肝胰腺中 SOD 活性均呈现先上升后下降趋势,而且攻毒组肝胰腺和肌肉组织中 SOD 酶活总体上低于对照组,这与刘文珍等^[20]对凡纳滨对虾的结果一致,与王洪斌等^[21-22]的用副溶血弧菌(*Bibrio Parahemolyticus*)和鳃弧菌(*vibrio anguillarum*)感染结果也是一致的。这是由于弧菌导致机体出现过多自由基, SOD 在清除自由基的同时其活性也随之升高。但随着注射时间的延长,自由基扰乱了体内一些重要生化过程,机体免疫系统受损, SOD 也相应下降^[21]。而经免疫多糖免疫后再攻毒,肝胰腺和肌肉组织中 SOD 酶活皆比攻毒组显著提高,且从 12 h 就呈现良好的免疫增强效应,72 h 时 SOD 酶活最高,表明此时有最好的免疫增强作用。

实验证明日本鳊体内的 LZM 和 SOD 能够被免疫多糖激活而起到免疫增强作用,从而大大提高日本鳊的免疫能力,增强了日本鳊抗溶藻弧菌的能力。但是,考虑到本实验是采用注射法,若运用于大批量的生产实践中,存在一定的难度,因此下一步研究将用口服或浸泡免疫等更为省时省力的方法。

参考文献:

- [1] 管晓娟. 甲壳动物体液免疫相关酶及免疫因子研究概况[J]. 生命科学仪器, 2009, 7(4):3-7.
- [2] 陈昌福, 陈萱, 陈超然, 等. 水产甲壳动物的免疫防御机能及其免疫预防研究进展[J]. 华中农业大学学报, 2003, 22(2):197-203.
- [3] 李花霞, 杨文鸽. 甲壳动物免疫因子研究的进展[J]. 水生生物学报, 2003, 27(4):418-420.
- [4] Rosario C, Norma C, Alex O. Effect of different β -glucans on the respiratory burst of turbot (*Psetta maxima*) and gilt head sea bream (*Sparus aurata*) phagocytes[J]. Fish & Shellfish Immunology, 1999, 9(7):529-541.
- [5] Luo Zhang, Yao Juan, Chen Changfu, et al. Influence of dietary yeast immunopolysaccharide on the resistance of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) against *Aeromonas hydrophila*[J]. Freshwater Fisheries, 2007(3):287-297.
- [6] 胡火庚, 陈昌福. 饲料中添加酵母复合物对中华绒螯蟹的免疫调节作用[J]. 长江大学学报: 农学卷, 2007, 4(2):36-40.
- [7] 沈文英, 阳会军, 柯慧芬, 等. β -葡聚糖对凡纳滨对虾免疫相关酶活性的影响[J]. 水产科学, 2007, 26(7):381-383.

- [8] Supphantharika M, Khunrae P, Thanardkit P, et al. Preparation of spent brewer's yeast β -glucans with a potential application as an immunostimulant for black tiger shrimp, *Penaeus monodon*[J]. BioreSource Technology, 2003, 88:55-60.
- [9] 陈昌福, 姚鹃, 陈萱, 等. 口服免疫多糖(酵母细胞壁)对南美白对虾抗哈维弧菌感染的作用[J]. 安徽农业大学学报, 2004, 31(4):402-405.
- [10] 徐镇, 姚娟, 陈昌福, 等. 免疫多糖(酵母细胞壁)对中华绒螯蟹抗病力的增强效果[J]. 华中农业大学学报, 2005, 24(4):383-386.
- [11] 许第新, 姚娟, 陈昌福. 注射免疫多糖(酵母细胞壁)对克氏原螯虾几种免疫相关酶活性的影响[J]. 淡水渔业, 2004, 34(5):56-58.
- [12] 王洪斌, 李士虎, 阎斌伦, 等. 海洋红酵母多糖提取及其对日本鳎血清中部分免疫活性因子的影响[J]. 微生物学通报, 2011, 38(2):176-180.
- [13] 仲伟静, 王安利. 对虾免疫多糖的研究进展[J]. 水产科学, 2009, 28(8):482-483.
- [14] 谭夕东, 李义, 张红英, 等. 海藻酸钠对中华绒螯蟹免疫功能及抗病力的影响[J]. 饲料工业, 2008, 29(6):24-27.
- [15] 沈锦玉, 刘问, 曹铮, 等. 免疫增强剂对中华绒螯蟹免疫功能的影响[J]. 浙江农业学报, 2004, 16(1):25-29.
- [16] 余水法, 蔡春芳, 宋学宏, 等. β -葡聚糖对河蟹免疫功能的影响[J]. 中国饲料, 2006, 5:20-22.
- [17] 黄旭雄, 周洪琪, 宋理平. 急性感染对中国明对虾非特异免疫水平的影响[J]. 水生生物学报, 2007, 31(3):325-330.
- [18] Wang S H, Chen J C. The protective effect of chitin and chitosan against *Vibrio alginolyticus* in white shrimp *Litopenaeus vannamei*[J]. Fish and Shellfish Immunology, 2005, 19:191-204.
- [19] 陈萍, 王清印, 李健, 等. 溶藻弧菌对三疣梭子蟹溶菌酶和磷酸酶活性的影响[J]. 渔业科学进展, 2009, 30(2):78-82.
- [20] 刘文珍, 邱德全. 溶藻弧菌对凡纳滨对虾血清中一氧化氮及氧自由基的影响[J]. 广东海洋大学学报, 2007, 27(3):60-63.
- [21] 王洪斌, 李士虎, 许冰, 等. 副溶血弧菌感染日本鳎后对几种免疫活性酶的影响[J]. 水产科学, 2010, 29(11):653-656.
- [22] 王洪斌, 成明, 吴琴, 等. 鳎弧菌感染对日本鳎部分免疫活性因子的影响[J]. 水生生态杂志, 2012, 33(3):113-115.

Effects of Immunopolysacchride on LZM and SOD Activity of *Charybdis japonicas*

ZHOU Wei¹, XU Shan-liang^{1,2*}, SHI Hao¹

(1.School of Marine Science, Ningbo University, Ningbo 315211, China;

2.Key Laboratory of Applied Marine Biotechnology of Ministry of Education, Ningbo University, Ningbo 315211, China)

Abstract: The *Charybdis japonicas* was performed with different treatments: normal saline controled group, *Vibrio alginolyticus* infected group, immunopolysaccharide group, immunopolysacchride and after *Vibrio alginolyticus* infected group. Then we analysed the changes of the lysozyme (LZM) and superoxide dismutase (SOD) in the hepatopancreas and muscle. The results showed that the activities of LZM and SOD in hepatopancreas were higher than the muscles'. The effect of immunoenhancement on the hepatopancreas was also significantly higher than muscle's. Besides, LZM's activity of the immune group was elevated to the peak ($P<0.05$) after 24 hours in the hepatopancreas and muscle, which was $(11.2\pm 2.78) \text{ U}\cdot\text{mg}^{-1}$ and $(3.75\pm 1.05) \text{ U}\cdot\text{mg}^{-1}$. And SOD's activity also reached the peak after 24 hours, which was 2.2 and 1.4 times of control group in the hepatopancreas and muscle. After 72 hours LZM's activities of the immuned and bacterial infected group were 62.8% and 75.2% higher than the bacterial infected group in the hepatopancreas and muscle. The SOD's activities were also significantly higher than bacterial infected group ($P<0.05$), which were 3.5 and 4.2 times of the bacterial infected group. Therefore, immunopolysacchride maked a effective immune enhancement of *Charybdis japonica* and improved the resistance ability of disease.

Key words: *Charybdis japonica*; immunopolysacchride; LZM; SOD; immunoenhancement

(责任编辑 史小丽)