

嗜水气单胞菌对克氏原螯虾 免疫相关因子活性的影响

刘振兴 陈昌福 高宇 王美珍 谭晶晶 李革雷

华中农业大学水产学院, 武汉 430070

摘要 将嗜水气单胞菌(*Aeromonas hydrophila*)用灭菌生理盐水调节至 1.5×10^4 cfu/mL(I组)和 1.5×10^6 cfu/mL(II组)的浓度后,注射法接种克氏原螯虾(*Procambarus clarkii*)(人工感染),定时检测供试克氏原螯虾的总血细胞数量(THCs)、淋巴液中酚氧化酶(PO)、超氧化物歧化酶(SOD)、溶菌酶活性和抗菌活力等免疫相关因子活性的变化状况。结果表明,注射不同浓度的*A. hydrophila*后的8~48 h之间,供试克氏原螯虾的免疫相关因子的活性发生了显著变化。2个试验组的克氏原螯虾在注射*A. hydrophila*后8~48 h内,THCs和SOD活性显著低于注射生理盐水的对照组,其中I组克氏原螯虾的THCs和SOD活性分别于注射感染的12、24 h降至最低值,于48、96 h恢复至正常值;而II组克氏原螯虾的THCs和SOD活性均于48 h降至最低值,于96 h逐渐恢复。I组克氏原螯虾在注射*A. hydrophila*后12~48 h,溶菌活力、抗菌活力和PO活性均显著高于对照组,并分别于24、24、48 h达到最大值,96 h后恢复正常;而II组克氏原螯虾在注射*A. hydrophila*后12~48 h,溶菌活力、抗菌活力和PO活性均显著低于对照组,均于48 h降至最低,96 h后逐渐恢复接近正常值,但是仍然低于对照组。

关键词 嗜水气单胞菌; 克氏原螯虾; 免疫相关因子; 酚氧化酶活性; 超氧化物歧化酶活性; 溶菌酶活性; 抗菌活力

中图分类号 S 942.5 文献标识码 A 文章编号 1000-2421(2011)03-0358-06

克氏原螯虾(*Procambarus clarkii*)是目前全世界养殖范围最广的淡水螯虾养殖种类^[1]。近几年,国内人工养殖克氏原螯虾的热潮正在兴起,仅湖北省在2008年的克氏原螯虾养殖面积就达到了数万公顷^[2]。然而,由于广大的养殖者对克氏原螯虾的生物学特性缺乏深入的了解,所采取的养殖模式、养殖环境以及控制疾病的方法不适宜等,导致人工养殖克氏原螯虾的病害越来越频繁地发生^[3]。国内外已相继报道了人工养殖螯虾的多种病原体,如螺原体(*spiroplasma*)、副溶血弧菌(*Vibrio parahaemolyticus*)、嗜水气单胞菌(*Aeromonas hydrophila*)、拟态弧菌(*Vibrio mimicus*)、螯虾丝囊霉(*Aphanomyces astaci*)等^[4-7]。

气单胞菌(*Aeromonas*)普遍存在于各种水体中,也是养殖水环境中正常菌群构成种类之一,多数气单胞菌属的细菌被认为不是克氏原螯虾的主要致

病菌^[8]。笔者以淡水鱼类细菌性败血症病原嗜水气单胞菌作为攻毒菌种,初步研究克氏原螯虾在注射嗜水气单胞菌后1~96 h总血细胞数量(THCs)、酚氧化酶活性(PO)、抗菌活力、溶菌酶活性、超氧化物歧化酶(SOD)等甲壳动物免疫机能常规评价指标的变化规律,以期初步了解病原入侵后克氏原螯虾的防御及免疫应答机制。

1 材料与方 法

1.1 供试克氏原螯虾的来源

采用从武汉市白沙洲水产批发市场购买的平均质量为 (15.2 ± 2.6) g、活泼而无伤残的克氏原螯虾作试验虾。暂养2周后,挑选无损伤、有活力的蜕皮间期的克氏原螯虾用于本试验。

1.2 嗜水气单胞菌的培养

采用已被证实对淡水螯虾以及淡水鱼类具有高

收稿日期: 2010-12-15

基金项目: 湖北省重点科技攻关项目(200903013)

刘振兴, 硕士研究生, 研究方向: 水产动物疾病与免疫. E-mail: liuzhenxing1128@webmail.hzau.edu.cn

通讯作者: 陈昌福, 博士, 教授, 研究方向: 水产动物疾病与免疫. E-mail: chenchangfu@mail.hzau.edu.cn

致病力^[9]的嗜水气单胞菌作为试验菌株。将 *A. hydrophila* 接种在 BHI 液体培养基中,于 28 ℃ 条件下培养 24 h,再以 4 000 r/min 离心 15 min 集菌,用无菌生理盐水将菌液浓度调整到 1.5×10^4 和 1.5×10^6 cfu/mL,即为人工致病用活菌液。

1.3 试验设计

试验共 3 个处理组,生理盐水注射组(SaIn)、 1.5×10^4 cfu/mL 嗜水气单胞菌注射组(Group I)、 1.5×10^6 cfu/mL 嗜水气单胞菌注射组(Group II),以无任何处理的克氏原螯虾为对照组,每组放养 50 尾虾,生理盐水采用 0.65% 的无菌生理盐水,注射部位为虾的腹血窦,注射量为 0.1 mL。

1.4 样品的采集和免疫指标的测定

在试验开始的第 0、1、4、8、12、24、48、96 小时,每组取 6 尾虾,用 1 mL 无菌注射器自虾头胸甲后插入围心腔抽取 500 μ L 血淋巴,置于无菌 Eppendorf 管中,立即加入等体积预冷的抗凝剂阿氏液(Alsever's solution),摇匀,取 100 μ L 抗凝血用于总血细胞(THC)的计数,余下的 4 ℃,3 000 r/min 离心 10 min 即得血清,-80 ℃ 保存用于 PO、SOD、溶菌活力和抗菌活力的测定。

血清酚氧化酶(PO)活性测定:以 *L*-多巴为底物,采用改进的 Ashida 等的方法^[10-11],在 96 孔酶标板中进行。把 10 μ L 血清加入 96 孔酶标板中,然后向各孔中加入 200 μ L 0.1 mol/L pH 6.0 磷酸盐缓冲液,最后向各样品孔中加入 10 μ L 的 *L*-多巴(Sigma)液(0.01 mol/L),在酶标仪(550, Bio-Rad)中振荡 4 次,每隔 4 min 读取 490 nm 处的吸光值。酶活力以试验条件下, D_{490} 每分钟增加 0.001 为 1 个酶活力单位。

血清抗菌活力测定:采用 Hultmark 等^[12]改进的方法进行。将大肠杆菌用 0.1 mol/L、pH 6.4 的磷酸钾盐缓冲液配成一定浓度的悬液($D_{570} \approx 0.3$)作为底物。取 3 mL 该悬液于试管内置冰浴中,再加入 50 μ L 待测血清,混匀,立即于 570 nm 下测其 A_0 值,然后将试管移入 37 ℃ 水浴中作用 30 min,取出后立即置冰浴中终止反应,测其 A 值。抗菌活力按 $[(A_0 - A)/A]^{1/2}$ 式计算。

血清溶菌活力测定:采用 Hultmark 等^[12]改进的方法进行。以溶壁微球菌(*Micrococcus lysoleiiticus*, 南京建成生物工程研究所)冻干粉为底物,溶于 0.1 mol/L、pH 6.4 的磷酸钾盐缓冲液中,调整菌悬液的 OD 值($D_{570} \approx 0.3$),取 3 mL 该悬液于小

试管内置冰浴中,再加入 50 μ L 待测血清混匀,立即于 570 nm 下测其 A_0 值,然后将试管移入 37 ℃ 水浴中作用 30 min,取出后立即置冰浴中终止反应,测其 A 值。溶菌活力按 $(A_0 - A)/A$ 式计算。

SOD 活性测定:按照南京建成生物工程研究所试剂盒说明操作,一个 SOD 活力单位(U)定义为每毫升反应液中 SOD 抑制率达 50% 时所对应的 SOD 量。

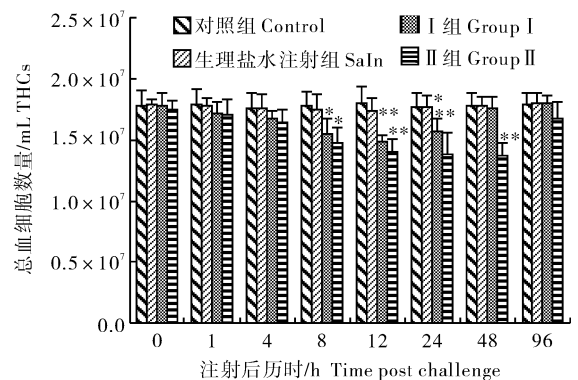
1.5 数据处理

试验数据用 SPSS 16.0 软件进行分析,以平均值 \pm 标准差表示,组间差异用 LSD's 多重比较,显著水平为 0.05。

2 结果与分析

2.1 嗜水气单胞菌注射对克氏原螯虾 THC 的影响

如图 1 所示,对照组和 SaIn 组 THC 在试验过程中均未发生显著变化,而 I 组和 II 组在注射嗜水气单胞菌后,均呈现先降低后升高的趋势,并分别于 12、48 h 降到最低值。试验后第 8 小时, I 组和 II 组 THC 显著低于对照组($P < 0.05$),第 12 小时极显著低于对照组($P < 0.01$)。试验后第 24 小时, I 组 THC 略有回升,但仍显著低于对照组,48 h 恢复至正常水平,而 II 组 THC 在试验后 24、48 h 仍极显著低于对照组,96 h 逐渐恢复至正常水平。



*: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$; 下图同 The same as below.

图 1 嗜水气单胞菌对克氏原螯虾 THC 的影响
Fig.1 Effects of *A. hydrophila* injection on the THC of *Procamburus clarkii*

2.2 嗜水气单胞菌注射对克氏原螯虾溶菌活力的影响

如图 2 所示,4 个实验组在 0 h 以及注射后 1~8 h 溶菌活力均无显著变化。I 组在注射后 12、

48 h 抗菌活力显著高于对照组, 于 24 h 达到最大值, 与对照组差异极显著, 并于 96 h 恢复至正常水平。II 组在注射后第 8 小时抗菌活力低于对照组, 但差异不显著, 注射后 12 h 与对照组相比差异显著, 24、48 h 差异极显著, 96 h 逐渐回升。

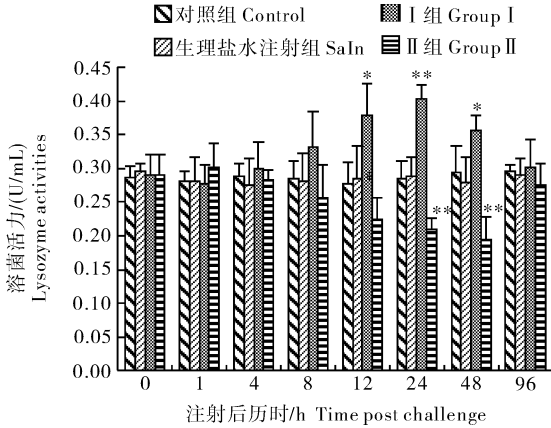


图 2 嗜水气单胞菌对克氏原螯虾溶菌活力的影响

Fig. 2 Effects of *A. hydrophila* injection on the lysozyme activities for *Procambarus clarkii*

2.3 嗜水气单胞菌注射对克氏原螯虾抗菌活力的影响

如图 3 所示, 对照组和 SaIn 组抗菌活力在整个试验过程中未发生显著变化。而 I 组和 II 组在注射嗜水气单胞菌后 12~48 h 抗菌活力与对照组相比均发生显著变化。I 组在注射后 4 h 抗菌活力开始呈现先升高后降低的趋势, 并于 24 h 达到最大值, 其中第 12 和 48 小时与对照组相比差异显著, 第 24 小时差异极显著。II 组在注射后 8 h 抗菌活力逐渐降低, 于 48 h 达到最低值, 96 h 逐渐恢复, 其中第 12 小时抗菌活力显著低于对照组, 24、48 h 差异极显著。

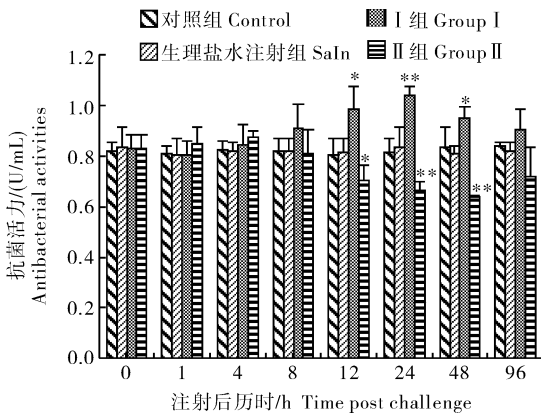


图 3 嗜水气单胞菌对克氏原螯虾抗菌活力的影响

Fig. 3 Effects of *A. hydrophila* injection on the antibacterial activities for *Procambarus clarkii*

2.4 嗜水气单胞菌注射对克氏原螯虾 SOD 活性的影响

如图 4 所示, 4 个实验组在试验后 4 h SOD 活性均未发生显著变化, I 组和 II 组在注射后 8 h SOD 活性逐渐下降, 并分别于 24、48 h 降至最低值, 96 h 恢复至正常水平。I 组在注射后 8 h SOD 活性与对照组相比略有降低, 但差异不显著, 12~48 h SOD 活性显著低于对照组, 其中第 12、24 小时差异极显著。II 组在注射后 8~48 h SOD 活性显著低于对照组, 其中第 12、24、48 小时差异极显著。

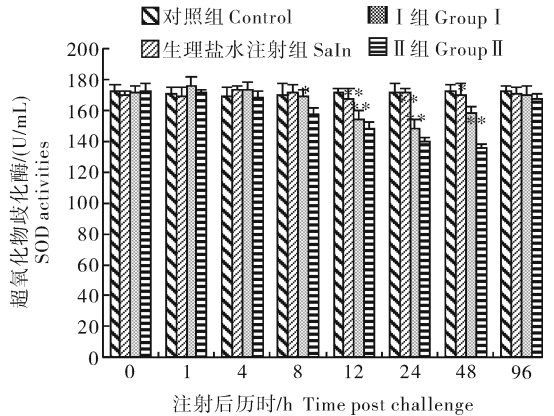


图 4 嗜水气单胞菌对克氏原螯虾 SOD 活性的影响

Fig. 4 Effects of *A. hydrophila* injection on the SOD activities for *Procambarus clarkii*

2.5 嗜水气单胞菌注射对克氏原螯虾 PO 活性的影响

如图 5 所示, 4 个实验组在 0 h 以及试验后 1~8 h PO 活性均未发生显著变化, 而 I 组和 II 组在试验后 12~48 h PO 活性与对照组相比均发生显著变化。I 组 PO 活性于注射后 8 h 开始增加, 并于 48 h

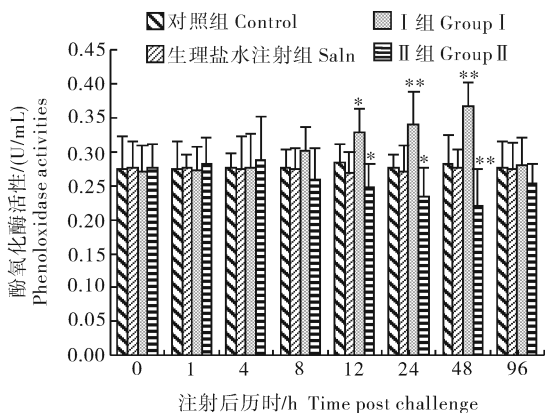


图 5 嗜水气单胞菌对克氏原螯虾 PO 活性的影响

Fig. 5 Effects of *A. hydrophila* injection on the PO activities for *Procambarus clarkii*

达到最高值,96 h恢复至正常水平,其中8 h与对照组相比差异不显著,12 h显著高于对照组,24、48 h极显著高于对照组。II组PO活性于注射后8 h开始降低,并于48 h降到最低值,96 h逐渐恢复,但仍低于对照组,其中8 h与对照组相比差异不显著,12、24 h显著低于对照组,48 h极显著低于对照组。

3 讨论

尽管甲壳动物不具有获得性免疫特有的免疫球蛋白,但是和大多数无脊椎动物一样,它们具有有效抵御病原微生物入侵的先天免疫系统,其先天免疫机制包括吞噬、包囊、节结形成、血细胞凝集、抗菌肽的释放以及酚氧化酶原系统介导的黑化作用等^[13]。

血细胞在甲壳动物免疫防御中发挥重要作用,其数量作为甲壳动物的应激和免疫指标,随环境的变化影响较大,尤其当受到病原侵袭时,血细胞数量会发生显著变化^[14]。本研究发现,克氏原螯虾经嗜水气单胞菌注射后THCs在一定时间内逐渐减少,并且随着菌浓度的增大,其减少越显著。斑节对虾(*Penaeus monodon*)经鳃弧菌(*Vibrio anguillarum*)注射后血淋巴中总血细胞数量(total haemocyte counts, THCs)和各种血细胞数量(differential haemocyte counts, DHCs)显著降低^[15]。此外,体内注射脂多糖、 β -葡聚糖等病原成分也能够显著降低甲壳动物的THCs^[16]。

当机体受到病原入侵,血细胞首先参与免疫应答进行吞噬或被诱导脱颗粒^[17],从而导致THCs的减少,另外,THCs的减少可能与病原入侵对甲壳动物造血器官的破坏有关,对虾白斑综合症病毒能够在对虾眼睛和淋巴器官中增殖^[18],导致其功能减退,而眼柄窦腺分泌物和淋巴器官干细胞对血细胞的增殖起主要作用^[19]。

酚氧化酶原系统(proPO)是甲壳动物体液免疫主要组成之一,在对对虾和螯虾的研究中发现,proPO在识别非己和抵御病原过程中发挥重要作用,同时机体的PO水平也是衡量其免疫水平常用的重要因子^[20]。本试验发现,克氏原螯虾经低浓度嗜水气单胞菌注射后,PO活性在一定时间内被激活,呈现上升的趋势,而经高浓度注射后,PO活性被抑制,呈较低水平。同样,Sung等^[21]以 10^3 cells/g维

罗纳气单胞菌注射罗氏沼虾(*Macrobrachium rosenbergii*)后发现,细胞内PO活性迅速增强,并于24 h后恢复至正常水平。而Sahoo等^[22]进一步研究表明,罗氏沼虾经低浓度嗜水气单胞菌注射后,酚氧化酶活性在短时间内迅速升高,而后逐渐降低,而经高浓度注射后,其活性显著降低。欧洲龙虾(*Homarus gammarus*)在注射溶藻弧菌(*V. anguillarum*)后24 h,其proPO转录水平均显著增加^[23]。

甲壳动物抗菌物质包括凝集素、抗菌肽、溶菌酶等,他们是体液免疫的主要成分。抗菌因子存在于多种组织中,而血细胞是这些抗菌物质合成和储存的主要场所。当血细胞受到病原和免疫增强剂刺激时,这些抗菌物质就会释放到血淋巴中^[24]。与本研究结果相似,王雷等^[25]研究证明正常中国对虾的血淋巴抗菌活性较高,而濒死中国对虾几乎丧失抗菌活性,由此可知,溶菌活力可以作为监视甲壳动物免疫机能的有效指标,并且低浓度弧菌注射刺激后,血淋巴的溶菌活力大大提高,而当高浓度弧菌刺激后,溶菌活力反而有所降低。南美白对虾和中国明对虾分别经副溶血弧菌和哈维氏弧菌感染后,溶菌活性均显著降低,并且随注射浓度的增加呈下降趋势^[26]。

超氧化物歧化酶(SOD)是机体快速有效清除活性氧的重要抗氧化酶,是生物体防御氧化损伤的重要酶类。SOD活性与生物的免疫水平密切相关,并已在多种十足类甲壳动物中证明了其在免疫调节中的作用。与本试验研究结果相似,当机体受到细菌和真菌入侵时,SOD活性会降低。Li等^[27]在对凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)的研究中发现,当其经溶藻弧菌(*Vibrio alginolyticus*)注射后3 h SOD活性显著降低,72 h后恢复至正常水平,并且随注射浓度的增加呈下降的趋势。Cheng等^[28]研究表明,罗氏沼虾(*Macrobrachium rosenbergii*)经格氏乳球菌(*Lactococcus garvieae*)注射后,肝脏中细胞质锰SOD(cytMnSOD)和铜锌SOD(CuZn-SOD)转录水平显著降低,证明大量细菌侵入到机体后,SOD表达细胞数量减少,导致酶活降低,进而造成机体代谢平衡的紊乱。

作为细菌性败血症病原的嗜水气单胞菌既然是水体中正常的条件致病菌,那么当养殖环境恶化,养殖动物免疫机能下降,就有可能导致疾病的暴发。

因此,养殖户要结合克氏原螯虾的生物学特性,控制养殖密度和养殖环境,以有效减少疾病的暴发。陈昌福等^[5,29]曾通过人工感染致病菌再治疗以及对患病克氏原螯虾分离的致病菌进行药物敏感试验均获得敏感有效的治疗药物,为克氏原螯虾的疾病防控提供了科学依据。

参 考 文 献

- [1] DAVID M H. Biology of freshwater crayfish[M]. Oxford: Blackwell Science Ltd,2002;3-29.
- [2] 陈昌福,贺中华,孟小亮,等. 湖北省克氏原螯虾养殖现状与产业发展中的技术问题[J]. 养殖与饲料,2008(11):14-19.
- [3] 陈昌福. 人工养殖克氏原螯虾中出现的问题与对策[J]. 渔业致富指南,2008(17):16-19.
- [4] WANG W, GU W, DING Z F, et al. A novel spiroplasma pathogen causing systemic infection in the crayfish *Procambarus clarkia* (Crustacea:Decapod) in China[J]. FEMS Microbiology Letters, 2005,249:131-137.
- [5] 陈昌福,刘远高,何广文,等. 克氏原螯虾暴发细菌性病原的研究[J]. 华中农业大学学报,2009,28(2):193-197.
- [6] JIRAVANICHPAISAL P, ROOS S, EDSMAN L, et al. A highly virulent pathogen, *Aeromonas hydrophila*, from the freshwater crayfish *Pacifastacus leniusculus* [J]. Journal of Invertebrate Pathology,2009,101(1):56-66.
- [7] EAVES L E, KETTERER P J. Mortalities in red claw crayfish *Cherax quadricarinatus* associated with systemic *Vibrio mimicus* infection[J]. Diseases of Aquatic Organisms,1994,19:233-237.
- [8] NEW M B. Status of freshwater prawn farming;a review[J]. Aquaculture Research,1995,26(1):1-54.
- [9] 陆承平. 致病性嗜水气单胞菌及其所致鱼病综述[J]. 水产学报,1992,16(3):282-288.
- [10] ASHIDA M. Purification and characterization of pre-prophenoloxidase from hemolymph of the silkworm, *Bombyx Mori* [J]. Arch Biochem Biophys,1971,144(2):749-762.
- [11] 雷质文,黄捷,杨冰,等. 感染白斑综合征病毒(WSSV)对虾相关免疫因子的研究[J]. 中国水产科学,2001,8(4):16-51.
- [12] HULTMARK H G, STEINER H, RAMUSON T, et al. Insect immunity: purification and properties of three inducible bacterial proteins from hemolymph of immunized pupae of *Hyalophora ceeropia* [J]. Eur J Biochem,1980,106:7-16.
- [13] JOHANSSON M W, KEYSER P, SRITUNYALUCKSANA K, et al. Crustacean haemocytes and haematopoiesis[J]. Aquaculture,2000,191:45-52.
- [14] MOULLAC G L, SOYEZ C, SAULNIER D, et al. Effect of hypoxia stress on the immune response and the resistance to vibriosis of the shrimp *Penaeus stylirostris* [J]. Fish Shellfish Immunology,1998,8(8):621-629.
- [15] VAN DE BRAAK C B T, BOTTERBLOM M H A, TAV-ERNE N, et al. The roles of haemocytes and the lymphoid organ in the clearance of injected *Vibrio* bacteria in *Penaeus monodon* shrimp[J]. Fish Shellfish Immunology, 2002,13(4):293-309.
- [16] LORENZON S, GUARRINI S D, SMITH V J, et al. Effects of LPS injection on circulating haemocytes in crustaceans *in vivo* [J]. Fish Shellfish Immunology,1999,9(1):31-50.
- [17] JOHANSSON M W, LIND M I, HOLMBLAD T, et al. Peroxynectin, a novel cell adhesion protein from cray fish blood[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications,1995,216(3):1079-1087.
- [18] 朱建中,陆承平. 对虾白斑综合症病毒研究概况[J]. 动物医学进展,2003,24(1):47-49.
- [19] VAN DE BRAAK C B T, BOTTERBLOM M H A, LIU W, et al. The role of the haematopoietic tissue in haemocyte production and maturation in the black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) [J]. Fish Shellfish Immunology,2002,12(3):253-272.
- [20] AMPARYUP P, CHAROENSAPSRI W, TASSANAKAJON A. Two prophenoloxidases are important for the survival of *Vibrio harveyi* challenged shrimp *Penaeus monodon* [J]. Dev Comp Immunol,2009,33(2):247-256.
- [21] SUNG H H, HWANG S F, TASI F M. Responses of giant freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) to challenge by two strains of *Aeromonas* spp [J]. Journal of Invertebrate Pathology,2000(76):278-284.
- [22] SAHOO P K, PILLAI B R, MOHANTY J, et al. *In vivo* humoral and cellular reactions, and fate of injected bacteria *Aeromonas hydrophila* in freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* [J]. Fish Shellfish Immunology,2007,23(2):327-340.
- [23] HAUTON C, HAMMOND J A, SMITH V J. Real-time PCR quantification of the *in vitro* effects of crustacean immunostimulants on gene expression in lobster (*Homarus gammarus*) granular haemocytes [J]. Developmental and Comparative Immunology,2005,29:33-42.
- [24] HAUG T, KJUUL A K, STENSVAG K, et al. Antibacterial activity in four marine crustacean decapods [J]. Fish Shellfish Immunology,2002,12(5):371-385.
- [25] 王雷,李光友. 中国对虾血淋巴中的抗菌、溶菌活力与酚氧化酶活力的测定及其特性研究[J]. 海洋与湖沼,1995,26(2):179-185.
- [26] 翟秀梅,王斌,毛连菊,等. 副溶血弧菌对南美白对虾生理生化指标的影响[J]. 上海水产大学学报,2007,16(2):162-168.
- [27] LI C C, YEH S T, CHEN J C. The immune response of white shrimp *Litopenaeus vannamei* following *Vibrio alginolyticus* injection [J]. Fish Shellfish Immunology,2008,25(6):853-860.
- [28] CHENG W, TUNG Y H, LIU C H, et al. Molecular cloning and characterization of copper/zinc superoxide dismutase (Cu,

Zn-SOD) from the giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* [J]. *Fish Shellfish Immunology*, 2006, 21(1): 102-112. [29] 陈昌福, 田甜, 贺中华, 等. 盐酸土霉素对人工致病克氏原螯虾的治疗效果研究[J]. *华中农业大学学报*, 2009, 28(5): 600-603.

Effects of *Aeromonas hydrophila* injection on related immunity factors of red swamp crayfish *Procambarus clarkii*

LIU Zhen-xing CHEN Chang-fu GAO Yu WANG Mei-zhen TAN Jing-jing LI Ge-lei

College of Fisheries, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China

Abstract Healthy red swamp crayfish, *Procambarus clarkii* were artificially infected by injected with *Aeromonas hydrophila* at the concentration of 1.5×10^4 (Group I) and 1.5×10^6 cfu/mL (Group II). Immunity factors including total haemocyte counts (THCs), phenoloxidase (PO) activity, superoxide dismutase (SOD), lysozyme activity and antibacterial activity in the haemolymph were examined at 1-96 h post infection at regular time. The results showed significant differences were observed in immune indicators of two infected groups during 8-48 h post infection. THCs and SOD activities of two treatment groups significantly decreased after 8-48 h compared to control, and THCs, SOD activities of group I decreased to the lowest level after 12, 24 h, and returned to original level after 48, 96 h respectively. However, THCs, SOD activities of group II decreased to the lowest level after 48 h, and recovered gradually after 96 h. Lysozyme activity, antibacterial activity and PO activity of group I were significantly higher than those of the control group after 12-48 h, and reached to the top level after 24, 24 and 48 h, respectively, and finally returned to original level after 96 h. Significant decrease was observed in lysozyme activity, antibacterial activity and PO activity of group II after 12-48 h, and the lowest level was observed after 48 h, then gradually recovered after 96 h.

Key words *Aeromonas hydrophila*; red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*); related immunity factors; phenoloxidase (PO) activity; superoxide dismutase (SOD activity); lysozyme activity; antibacterial activity

(责任编辑:边书京)