

鳊浸泡嗜水气单胞菌全菌疫苗后皮肤黏液抗体的变化

罗霞^{1,2}, 潘厚军¹, 巩华¹, 刘瑞明¹, 石存斌¹, 吴淑勤¹

(1. 中国水产科学研究院珠江水产研究所, 广东 广州 510380; 2. 广东海洋大学水产学院, 广东 湛江 524088)

摘要:应用间接 ELISA 方法, 研究经嗜水气单胞菌 (*Aeromonas hydrophila*) 疫苗浸泡免疫后鳊 (*Siniperca chuatsi*) 皮肤黏液中抗体消长规律, 以揭示鳊局部黏膜免疫在免疫保护中的作用及浸泡免疫的保护效果。结果表明, 鳊皮肤黏液中抗体滴度在免疫后第 7 天达到峰值 2^{11} , 抗体从开始形成到消失持续 21 d; 添加佐剂 (IMS1312、葡聚糖、莢蓉碱、食盐) 可以提高鳊皮肤黏液及血清中抗体滴度和相对免疫保护率, 其中添加 IMS1312 组免疫保护率最高, 达 77.8%, 免疫保护与抗体滴度成正相关 ($R^2=0.79, P<0.05$); 以溶菌酶为代表的非特异性免疫在免疫后 1 周内即抗体未形成时, 对鱼体起主要保护作用。此外, 通过比较鳊血清与皮肤黏液中的抗体消长规律, 发现血清中抗体滴度峰值出现时间较迟 (第 14 天), 抗体持续时间较长 (42 d), 初步推断鳊皮肤黏膜中可能存在相对独立于全身免疫系统的局部黏膜免疫系统。[中国水产科学, 2007, 14 (5): 823–828]

关键词:鳊; 嗜水气单胞菌疫苗; 浸泡免疫; 皮肤黏液抗体

中图分类号: S94

文献标识码: A

文章编号: 1005–8737–(2007)05–0823–06

鳊 (*Siniperca chuatsi*), 俗称桂花鱼, 具有较高的经济价值。由于各种疾病的发生给鳊的养殖造成灾难性的危害, 这就使免疫防治技术在鱼病防治中具有广阔的应用前景。鱼类皮肤、鳃、肠道等器官的上皮组织是动物机体与外界水环境接触的门户, 也是阻止微生物及异物进入体内的第一道防线^[1]。黏膜免疫系统对疾病抵抗的重要性逐渐为人们所认识, 加之目前对口服疫苗及浸泡疫苗研究的需要, 黏膜免疫研究逐渐得到了越来越多学者的关注^[1–3]。

本研究定期采集免疫鳊和未免疫鳊的皮肤黏液, 通过 ELISA 方法测定其抗体滴度, 分析其中的抗体动态变化规律及浸泡免疫的效果, 以得出最佳免疫途径及方案, 同时结合鳊黏液及血清中溶菌酶的动态变化对其黏膜免疫反应做了初步研究, 以期在生产实践提供指导性作用。

1 材料与方法

1.1 材料

鳊购自广东省南海市某养殖场, 体质量 (325.3 ± 15.0) g, 体长 (25.2 ± 2.5) cm。随机分为 12 个

组, 每组 15 尾 (每个实验处理同时设 2 个平行组), 分别置于 2 个水泥池中的 12 个网箱中暂养 1 周, 水温保持在 28~29 ℃, 期间投喂活的鲢鱼苗作为饵料。鳊摄食活动状态良好, 抽样镜检体表无虫, PCR 检测其脾肾无 ISKNV 病毒, 确认健康后用于实验。嗜水气单胞菌 (*Aeromonas hydrophila*, Ah) GYK1 株, 由本实验室自行分离、鉴定^[4]。

1.2 试剂

鼠抗鳊单抗 7F12-F6 株, 由福建省农科院畜牧兽医研究所和珠江水产研究所合作制备^[5]; HRP-羊抗鼠 IgG 为美国 Jackson 公司产品。β-1, 3 葡聚糖, 购自广东省农科院畜牧研究所; 莢蓉碱为杭州民生药业集团生产; IMS1312 为 Seppic 公司的鱼类浸浴免疫专用佐剂。溶菌酶试剂盒南京建成生物工程研究所出品。

1.3 方法

1.3.1 嗜水气单胞菌菌苗的制备 将保藏的嗜水气单胞菌接种于营养琼脂平板上, 28 ℃ 培养 24 h, 划线转接, 挑取单菌落接种于营养肉汤培养基中, 28 ℃ 培养 24 h, 0.3% 的甲醛灭活 3 d, 经检测确无活菌存

收稿日期: 2006–09–21; 修订日期: 2006–12–04.

基金项目: 国家科技支撑计划 (2006BAD03B05); 广东省自然科学基金 (04001503); 广东省科技计划 (2004B20301003).

作者简介: 罗霞 (1982–), 女, 硕士研究生, 从事水产经济动物免疫学及病害研究. Tel: 020–81617592; E-mail: lxwenhao@163.com

通讯作者: 吴淑勤. Tel: 020–81616813; E-mail: wushuqin001@21cn.com

在后,8 000 g 离心 20 min,菌体重悬于 0.65%生理盐水中,比浊法调整菌悬液浓度为 10^9 CFU/mL,4 ℃ 保存备用。

1.3.2 浸泡免疫 实验鱼于水泥池中暂养 7 d,在容积为 150 L 的蓝色塑料桶中浸泡免疫 30 min,实

验设置全菌疫苗组,全菌疫苗分别添加 IMS1312、葡聚糖、莨菪碱和食盐 4 种佐剂组 and 对照组,每个实验处理设置 2 个平行。1 周后加强免疫 1 次,方法同初次免疫,具体分组如表 1 所示。

表 1 各实验组疫苗的成分组成

Tab.1 Composition of vaccine for all the experiment groups

组别 Group	疫苗成分 Composition of vaccine	受免鱼数量 /ind Number of immunized fish
QJ	10^7 CFU/mL 全菌疫苗 Whole cell vaccine (WCV)	30
IM	10^7 CFU/mL 全菌疫苗 + 等体积 IMS1312 WCV + IMS1312	30
PJ	10^7 CFU/mL 全菌疫苗 + 5×10^{-6} 葡聚糖 WCV + Glucan	30
LD	10^7 CFU/mL 全菌疫苗 + 5×10^{-6} 莨菪碱 WCV + Belladonna	30
GS	10^7 CFU/mL 全菌疫苗 + 1.5% 食盐 WCV + Salt	30
Control	0.65% 生理盐水 0.65% NaCl	30

1.3.3 样品收集与处理 根据预实验并参照 Esteve 等^[6]对欧鳗的研究,分别于加强免疫后的第 0、4、7、14、21、28 天(测定溶菌酶含量的样品收集时间为免疫后第 0、1、2、3、7 天),收集鳗皮肤黏液和血清,具体方法如下。

黏液样品的收集与处理:每个实验处理设 2 个平行,每个平行组随机取 3 尾鱼。用洁净的玻片轻轻刮取鱼体表面皮肤后,将同组 3 尾鱼的黏液混合作为 1 组样,加等量生理盐水,10 000 g,4 ℃ 离心 30 min,取上清,-20 ℃ 冻存备用。

血清样品的收集与处理:每个实验处理设 2 个平行,每个平行组随机取 3 尾鱼,1 mL 无菌注射器尾部静脉采血后,每尾鱼的血液单独装于离心管中,室温静置 2 h 后 4 ℃ 过夜,6 000 g,4 ℃ 离心 15 min 取上清,最后将同组 3 尾鱼的血清合并作为 1 组样,-20 ℃ 冻存备用。

1.3.4 黏液和血清中抗体滴度的测定 采用间接 ELISA 方法,用浓度为 10^9 CFU/mL 的灭活嗜水气单胞菌悬液包被 96 孔酶标板,4 ℃ 过夜,5%脱脂奶粉 37 ℃ 水浴封闭 1.5 h,加入倍比稀释的黏液(对照用 PBS 代替)。单抗为 1:1 000 稀释的鼠抗鳗单抗(7F12-F6 株)血清,二抗为进口分装 HRP-羊抗鼠 IgG,1:2 000 稀释。TMB 显色 15 min,2 mol/L 硫酸终止反应。在酶标检测仪(Multiskan Mk3)上,于 450 nm 处,以空白对照调零后测各孔 OD 值,大于阴性对照 OD 值 2.1 倍(S/N>2.1)判为阳性。血

清中抗体滴度的测定方法相同。

1.3.5 溶菌酶含量的测定 具体方法参照南京建成生物工程研究所生产的溶菌酶测定试剂盒说明书。样品中溶菌酶含量 L_c 计算公式如下:

$$L_c (\mu\text{g/mL}) = \frac{\text{测定管透光度} - \text{空白管透光度}}{\text{标准管透光度} - \text{空白管透光度}} \times \text{标准管浓度} \times \text{样本稀释倍数}$$

式中,标准管质量浓度为 100 $\mu\text{g/mL}$ 。

1.3.6 相对免疫保护率(Relative percent survival, RPS)的测定 于加强免疫后 28 d,从各免疫组和对照组中随机取 10 尾鳗(每组设 2 个平行,共 20 尾),用终浓度为 1.0×10^6 CFU/mL 的 GYK1 活菌菌液浸泡鳗 20 min,随后转入无菌液的水中饲养,连续观察 7 d,记录死亡鱼数,计算相对免疫保护率(RPS),公式如下:

$$\text{RPS} = (1 - \text{免疫组死亡率} / \text{对照组死亡率}) \times 100\%$$

1.3.7 数据分析 实验所得数据均表示为平均值 $\pm$ 标准差($\bar{X} \pm \text{SD}$),采用软件 OriginPro 6.0 进行数据处理,并利用 t 检验进行差异性分析,当 $P < 0.05$ 时差异显著。

2 结果与分析

2.1 黏液及血清抗体滴度的动态变化

皮肤黏液和血清的抗体滴度-时间曲线如图 1 和图 2 所示。从图中曲线可以看出,在加强免疫后第 7 天,各免疫组鳗皮肤黏液中抗体滴度达到峰值,之后呈现下降趋势,到第 4 周基本下降到免疫前水

平(2^3),但仍略高于对照组。在达到峰值时,高渗组滴度最高,达到 2^{11} ,其后依次为IMS1312组(2^{10})和葡聚糖组(2^{10})、莨菪碱组(2^9)及全菌疫苗组(2^7),对照组抗体滴度没有太大变化,基本维持在 2^2 左右。

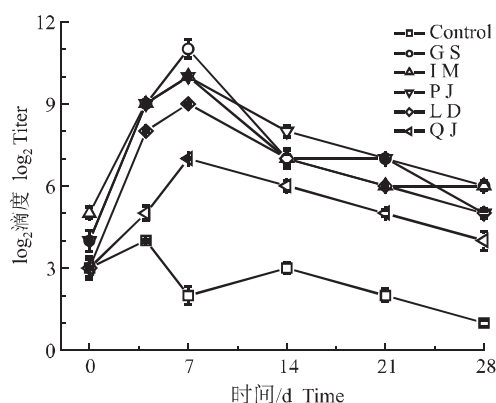


图1 各实验组鳎皮肤黏液中抗体滴度-时间曲线

Fig.1 Time-titre curve in skin mucus of *S. chuatsi*

各免疫组血清中的抗体滴度在加强免疫后14 d达到峰值,之后呈下降趋势,于第4周仍显著高于对照组,其中IMS1312组和高渗组最高,14 d时峰值为 $2^{14.3}$,其后依次为葡聚糖组($2^{13.3}$)、莨菪碱组($2^{12.3}$)和全菌疫苗组($2^{11.3}$)。对照组滴度较低,除第0、42、48天外,5个免疫组抗体滴度均显著高于对照组($P < 0.05$),且IMS1312组、葡聚糖组、莨菪碱组和高渗组的滴度均显著高于全菌疫苗组($P < 0.05$)。

除第0天外,5个免疫组抗体滴度均显著高于对照组($P < 0.05$),且IMS1312组、葡聚糖组、莨菪碱组和高渗组的滴度均显著高于全菌疫苗组($P < 0.05$)。

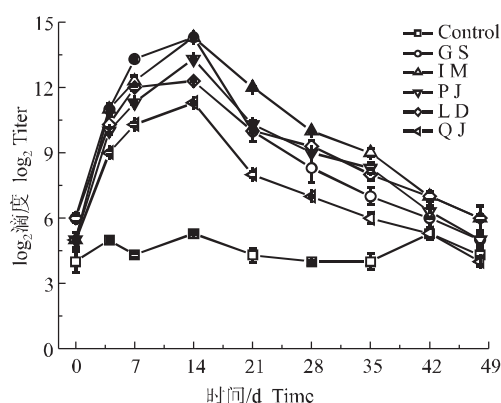


图2 各实验组鳎血清中抗体滴度-时间曲线

Fig.2 Time-titre curve in serum of *S. chuatsi*

2.2 黏液及血清中的溶菌酶含量

所测鳎黏液和血清中溶菌酶含量的变化如图3、4所示,免疫后7 d内,鳎皮肤黏液和血清中溶菌酶含量先增加后降低,前者于免疫后2 d达到峰值($144.28 \mu\text{g}/\text{mL}$),后者于免疫后3 d达到峰值($127.81 \mu\text{g}/\text{mL}$)。0~7 d期间,5个免疫组鳎皮肤黏液中溶菌酶含量均显著高于对照组($P < 0.05$);而血清中溶菌酶含量除第0 d外,其他时间也均显著高于对照组($P < 0.05$)。

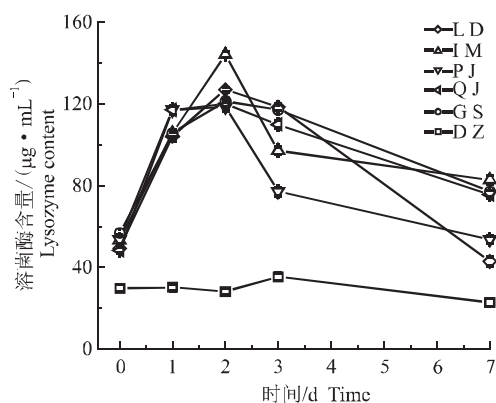


图3 各实验组鳎皮肤黏液中溶菌酶含量的变化

Fig.3 Changes of lysozyme content in skin mucus of *S. chuatsi*

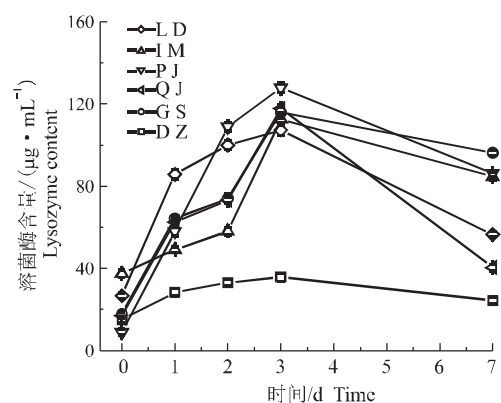


图4 各实验组鳎血清中溶菌酶含量的变化

Fig.4 Changes of lysozyme content in serum of *S. chuatsi*

2.3 相对免疫保护率

由图5可知,5个免疫组中,IMS1312组的免疫保护率最高,为77.8%,其次为葡聚糖组和高渗组,均为66.7%,莨菪碱组为55.6%,全菌组最低,为44.4%。

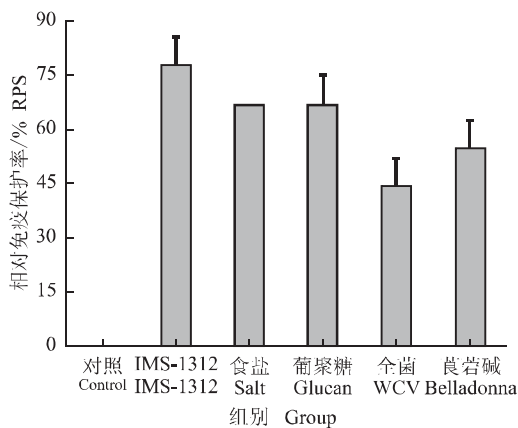


图5 鳊的相对免疫保护率

Fig.5 Relative percent survival (RPS) of *S. chuatsi*

2.4 相对免疫保护率与抗体滴度的关系

各实验组中鳊皮肤黏液抗体水平由高到低依次为高渗组、IMS1312组、葡聚糖组、莨菪碱组、全菌组、对照组;血清中抗体滴度由高到低依次为IMS1312组和高渗组、葡聚糖组、莨菪碱组、全菌组、对照组;相对免疫保护率由高到低依次为IMS1312组、葡聚糖组和高渗组、莨菪组、全菌组、对照组。对上述结果分析比较,鳊的相对免疫保护率与血清和黏液中抗体滴度成正相关($R^2=0.79$, $P<0.05$)。

3 讨论

3.1 黏膜抗体和血清抗体

Rombout等^[7]和Smith等^[8]提出鱼类存在分泌性免疫系统的假说,他们指出虽然免疫原性有相似之处,但黏膜抗体并非来自血清抗体,而是一种由局部产生的分泌性免疫球蛋白,在结构上与血清中的免疫球蛋白有一定差别。Xu等^[9]对鲢(*Ictalurus punctatus*)皮肤的离体培养实验证明皮肤能独立分泌抗体。Esteve等^[6]应用创伤弧菌(*Vibrio vulnificus*)疫苗浸泡欧洲鳗鲡(*Anguilla anguilla*),发现皮肤黏液中抗体滴度于第4天达到最大值65,此时血清中抗体滴度仍处于免疫前水平2000,直到7d后

才达到最大值25000,并且前者抗体持续时间为11d,短于血清中抗体持续时间24d。此外,还有许多关于鱼类局部黏膜和系统免疫中抗体的变化规律存在差异的报道,Cain等^[10]通过不同途径免疫虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)后,利用BIAcore生物感应器分别检测鳃部黏液和血清中的抗体变化,也发现前者出现早于后者;Dos Santos等^[11]对山川棘花鮨(*Dicentrarchus labrax*)浸泡免疫后,发现鳃部黏膜中抗体分泌细胞较头肾和脾中多。

本研究中鳊浸泡嗜水气单胞菌灭活疫苗后,皮肤黏液中抗体高峰期的出现时间早于血清抗体,但前者持续时间较后者短,这与Esteve等^[6]对欧鳗的研究结果相似。鱼体经浸泡免疫后,其皮肤表面最先接触抗原,由于鱼体皮肤黏膜中存在产生特异性抗体的B淋巴细胞^[12],抗原可以直接递呈给黏膜中的B淋巴细胞,因此抗体形成较快,而抗原需进入鱼体内淋巴器官组织后才能刺激血清中抗体产生^[6],所以血清抗体高峰期的出现时间晚于皮肤黏液抗体。至于黏液中抗体持续时间短于血清中抗体持续时间,可能是由于黏膜中可产生特异性抗体的B淋巴细胞数量较少的缘故。综合上述实验结果及前人研究,可初步推断,鳊皮肤黏膜中可能存在独立于系统免疫的局部黏膜免疫系统。仍需对黏膜抗体产生细胞、黏膜抗体与血清抗体特性比较等方面进行更深入的研究。

3.2 佐剂

佐剂能使抗原在鱼体内缓慢释放,增强巨嗜细胞和浆细胞的活性,加快抗体的生成,从而提高免疫效果^[13]。目前用于浸浴免疫的佐剂有皂土、莨菪碱、甘草素、PHA、鸡蛋清、 β -1,3-葡聚糖、脱乙酰几丁质等^[14],本实验从生产推广应用以及鱼体安全等角度考虑,选择了IMS1312、莨菪碱等、葡聚糖和食盐4种佐剂。张吉红等^[15]将嗜水气单胞菌灭活疫苗与IMS1312等体积乳化后浸浴免疫银鲫,发现加佐剂免疫组的保护率(67%)明显高于未加佐剂免疫组(56%),他们推测IMS1312是一种水包油型佐剂,其作用在于有利于抗原悬浮,促进鱼鳃、体表及肠道对抗原的吸收及其在体内的扩散。从免疫保护率的测定可以看出,添加佐剂IMS1312后保护率最高(77.8%),但该组皮肤黏液中抗体滴度(2¹⁰)在所有实验组中低于高渗组(2¹¹),位居第二。分析其原因,可能是黏膜免疫只能对机体起到部分保护作用,是机体免疫的第一道防线,机体对病原的特异性免

疫保护是黏膜抗体和血清抗体协同作用的结果^[6]。因而本实验中, IMS1312 组血清中抗体水平最高, 使该实验组鳎获得了较高的免疫保护。

葡聚糖的免疫增强效果, 在水产动物中也进行了较为广泛而深入的研究, Robertsen 等^[16]在用葡聚糖浸泡大西洋鲑 (*Salmo salar*) 时, 其体内吞噬细胞最大活性值出现在葡聚糖质量浓度 $0.1 \sim 1.0 \mu\text{g}/\text{mL}$ 之间, 葡聚糖质量浓度上升到 $10 \mu\text{g}/\text{mL}$ 时, 未显示出免疫增强现象, 而上升至 $50 \mu\text{g}/\text{mL}$ 时则表现出免疫抑制作用^[16]。陈月英等^[17]在浸泡菌苗溶液中分别加入 5×10^{-6} 的增效剂和 2% 的高渗剂食盐, 与未加佐剂组比较, 发现可以提高疫苗的相对免疫保护率和免疫期, 推断添加食盐可以促进鱼体的微循环, 提高机体对抗原的吸收作用。由本实验结果可以看出, 使用食盐和萘苄碱同样可以得到较高的抗体滴度及较好的免疫保护效果, 其成本低, 使用方便, 有利于实际生产中的推广应用。值得注意的是, 不同鱼种对盐浓度的耐受能力不同, 所以应根据鱼种类的不同, 具体确定其使用浓度。

3.3 溶菌酶

鱼类的免疫系统包括非特异性免疫和特异性免疫, 非特异性免疫可以在微生物入侵时立即发挥作用, 有效地清除并降解病原微生物和其他有害物质, 而此时抗体尚未产生^[18]。溶菌酶作为鱼类的非特异性免疫物质之一, 主要在肝脏内合成, 分布于体液及体表黏液中, 在鱼体抵抗感染性致病菌的最前沿防御机制中起着重要作用^[19]。本实验测定了鳎经嗜水气单胞菌浸泡免疫后 1 周内皮肤黏液和血清中溶菌酶含量的变化情况, 发现其含量均呈现先上升后降低的趋势, 并分别于免疫后 2 d 和 3 d 达到峰值, 而此时鱼血清抗体的含量还较低, 这与聂品^[18]的非特异性免疫在感染初期对鱼体起到主要保护作用的结论相吻合。

参考文献:

- [1] 巩华, 吴淑勤, 潘厚军. 硬骨鱼类黏膜免疫机理研究概况 [J]. 动物医学进展, 2006, 27 (6): 24-28.
- [2] 罗晓春, 谢明权, 黄玮, 等. 鱼类黏膜免疫研究进展 [J]. 水产学报, 2005, 29 (3): 411-416.
- [3] Stefaan V, Frans O, Renaat K, et al. Mucosal response in African catfish after administration of *Vibrio anguillarum* O₂ antigens via different routes [J]. Fish Shellfish Immunol, 2005, 18: 125-133.
- [4] 潘厚军, 吴淑勤, 董传甫, 等. 鳎致病性嗜水气单胞菌 GYK1 株的鉴定、毒力及溶血性 [J]. 上海水产大学学报, 2004, 13 (1): 23-29.
- [5] 王凡, 林天龙, 潘厚军, 等. 鳎血清免疫球蛋白单克隆抗体的制备及其特性分析 [J]. 水产学报, 2006, 30 (2): 285-288.
- [6] Esteve-Gassent M D, Nielsen M E, Amaro C. The kinetics of antibody production in mucus and serum of European eel after vaccination against *Vibrio vulnificus*: development of a new method for antibody quantification in skin mucus [J]. Fish Shellfish Immunol, 2003, 15: 51-61.
- [7] Rombout J H, Taverne N, van de Kamp M, et al. Differences in mucus and serum immunoglobulin of carp [J]. Dev Comp Immunol, 1993, 17: 309-317.
- [8] Smith V J, Fernandes J M O, Jones S J, et al. Antibacterial proteins in rainbow trout [J]. Fish Shellfish Immunol, 2000, 10 (3): 243-260.
- [9] Xu D H, Klesius P H, Shelby R A. Cutaneous antibodies in excised skin from channel catfish, *Ictalurus punctatus* Rafinesque, immune to *Ichthyophthirius multifiliis* [J]. J Fish Dis, 2002, 5: 45-52.
- [10] Cain K D, Jones D R, Raison R L. Characterisation of mucosal and systemic immune response in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) using surface plasmon resonance [J]. Fish Shellfish Immunol, 2000, 10: 651-666.
- [11] Dos Santos N M S, Taverne-Thiele J J, Barnes A C, et al. The gill is a major organ for antibody secreting cell production following direct immersion of sea bass (*Dicentrarchus labrax*, L.) in a *Photobacterium damsela* ssp. *piscicida* bacterin: an ontogenetic study [J]. Fish Shellfish Immunol, 2001, 11: 65-74.
- [12] Hatten F, Frederiksen A, Hordvik I, et al. Presence of IgM in cutaneous mucus, but not in gut mucus of Atlantic salmon, *Salmo salar*. Serum IgM is rapidly degraded when added to gut mucus [J]. Fish Shellfish Immunol, 2001, 11: 257-268.
- [13] Lonnstrom L G, Rahkonen R, Lunden T, et al. Protection, immune response and side-effects in European whitefish vaccinated against vibriosis and furunculosis [J]. Aquaculture, 2000, 20: 271-284.
- [14] Anderson D P. Adjuvants and immunostimulants for enhancing vaccine potency in fish [J]. Dev Biol Stand, 1997, 90: 257-265.
- [15] 张吉红, 陆承平. 佐剂对嗜水气单胞菌灭活疫苗免疫效果的作用 [J]. 中国兽医杂志, 2003, 37 (4): 26-27.
- [16] 周进, 黄健, 宋晓玲. 免疫增强剂在水产养殖中的应用 [J]. 海洋水产研究, 2003, 24 (4): 70-79.
- [17] 陈月英, 钱冬, 沈智华, 等. 淡水鱼类细菌性败血症菌苗浸浴免疫研究 [J]. 海洋与湖沼, 1998, 28 (6): 597-603.
- [18] 聂品. 鱼类非特异性免疫研究的新进展 [J]. 水产学报, 1997, 21 (1): 69-74.
- [19] Bayne C J, Gerwick L. The acute phase response and innate immunity of fish [J]. Dev Comp Immunol, 2001, 25: 725-743.

Changes of skin mucus antibody in mandarinfish (*Siniperca chuatsi*) after immersion vaccination against *Aeromonas hydrophila*

LUO Xia^{1,2}, PAN Hou-jun¹, GONG Hua¹, LIU Rui-ming¹, SHI Cun-bin¹, WU Shu-qin¹

(1. Pearl River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Guangzhou 510380, China; 2. Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524088, China)

Abstract: As a commercially important fish species, mandarinfish, *Siniperca chuatsi*, has been cultured extensively, whereas recently, many kinds of diseases caused by high density and deformed management has broken out frequently. Immersion immunity, as an efficient and convenient method to prevent diseases, has attracted more and more attentions. By way of this administration, the antigen enters into fish body mainly through its gill and skin. So to study the local mucus immunity is important. With the method of indirect enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), kinetics of antibody production in skin mucus of *Siniperca chuatsi*, after immersion with inactivated *Aeromonas hydrophila*, was studied to determine the function of mucus immunity in immunoprotection. The results showed that the peak of antibody titer (2^{11}) in mucus presented on the 7th day and lasted about 21 d from the beginning. Interestingly, mucosal antibody titer in all of these experimental groups peaked prior to serum antibody, suggesting stimulation of mucus defenses occurred earlier. Moreover, both mucosal and serum antibody titers as well as RPS were elevated by adding adjuvant. Among the six groups, the one with IMS1312 adjuvant reached the highest RPS value of 77.8%. We also found that the RPS of immunized mandarinfish was positively correlated with antibody titers. Non-specific immunity represented by the content of lysozyme played a major role in protection within the first week after vaccination. Additionally, compared with antibody production in serum (e. g., peaked on the 14th day and lasted about 42 d), we speculated that local mucus immunity system might exist independently. [Journal of Fishery Sciences of China, 2007, 14 (5): 823 – 828]

Key words: *Siniperca chuatsi*; *Aeromonas hydrophila* vaccine; immersion vaccination; skin mucus antibody

Corresponding author: WU Shu-qin. E-mail: wushuqin@21cn.com

欢迎订阅 2008 年《上海水产大学学报》

《上海水产大学学报》是上海水产大学主办的以水产科学为主的综合性学术刊物。主要反映自然科学各学科的科研成果,促进学术与教学研究的交流与繁荣。主要刊载渔业资源、水产养殖和增殖、水产捕捞、水产品保鲜与综合利用、渔业水域环境保护、渔船、渔业机械与仪器、渔业经济与技术管理以及基础研究等方面的论文,调查报告,研究简报,综述与评述,简讯等,并酌登学术动态和重要书刊的评价等。目前,《上海水产大学学报》已同时被中文核心期刊要目总览定为中文核心期刊、中国科学院文献情报中心定为中国科技论文统计源期刊、中国科学技术信息研究所定为中国科技核心期刊。

本刊为双月刊,大 16 开,国内外公开发行。每期定价 10 元。全年定价 60 元(含邮费)。国际标准刊号:ISSN 1004-7271,国内统一刊号:CN 31-1613/S。国内邮发代号:4-604,国外发行代号:4822Q。读者可在当地邮局订阅,也可直接汇款至编辑部订阅。

编辑部地址:上海市军工路 334 号,上海水产大学 38 信箱 邮编:200090

联系电话:021-65710892 传真:021-65710232

E-mail: xuebao@shfu.edu.cn