

文章编号: 1000-0615(2018)09-1438-08

DOI: 10.11964/jfc.20180211176

灿烂弧菌对厚壳贻贝免疫指标和消化酶活性的影响

梁箫^{1,2,3}, 张亚^{1,2}, 刘钰珠^{1,2}, 李一峰^{1,2,3},
BATISTA M F⁴, POWER D⁴, 杨金龙^{1,2,3*}

- (1. 上海海洋大学国家海洋生物科学国际联合研究中心, 上海 201306;
2. 上海海洋大学水产种质资源发掘与利用教育部重点实验室, 上海 201306;
3. 上海海洋大学水产科学国家级实验教学示范中心, 上海 201306;
4. Centre of Marine Sciences, University of Algarve, Faro, Portugal)

摘要: 为探究灿烂弧菌对厚壳贻贝免疫指标和消化酶活性的影响, 用 1×10^6 、 1×10^7 、 1×10^8 个/mL 3个浓度的灿烂弧菌刺激厚壳贻贝, 探讨弧菌刺激后厚壳贻贝的一氧化氮合酶(NOS)、一氧化氮(NO)、超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MAD)等免疫指标和淀粉酶、蛋白酶等消化酶的变化情况。结果显示, 灿烂弧菌刺激48 h后, 厚壳贻贝足、鳃、消化腺等组织中仅消化腺的NOS活性较对照组有显著升高, 且酶活性随初始细菌浓度的升高而升高, 故选用消化腺来测定灿烂弧菌刺激后72 h内的免疫指标和消化酶活性的变化。灿烂弧菌刺激后, 48 h内NOS活性较对照组均显著升高。NO含量较对照组均显著升高, 与NOS显现相同变化趋势。SOD活性在各浓度灿烂弧菌刺激下较对照组均显著升高, 而MAD含量在实验组中含量显著低于对照组。淀粉酶活性在实验组中显著低于对照组, 总体呈现先下降后升高的趋势。蛋白酶活性在各实验组中均呈现先升高后下降的趋势。研究表明, 灿烂弧菌对厚壳贻贝免疫指标和蛋白酶活性的升高有诱导作用, 但对蛋白酶的活性有抑制作用。本研究初步探明了厚壳贻贝对灿烂弧菌的免疫应答机制, 为进一步研究灿烂弧菌和厚壳贻贝相互作用机制以及厚壳贻贝免疫机制奠定了基础。

关键词: 厚壳贻贝; 灿烂弧菌; 免疫指标; 消化酶

中图分类号: S 968.3

文献标志码: A

厚壳贻贝(*Mytilus coruscus*), 隶属于软体动物门(Mollusca), 双壳纲(Bivalvia), 贻贝目(Mytilodia), 贻贝科(Mytilidae), 是我国重要的海水经济贝类^[1], 其中浙江嵊泗是该种的主要产地。近年来由于厚壳贻贝野生资源的过度捕捞以及贻贝幼苗的低附着率和种质资源的退化, 影响了厚壳贻贝养殖业的发展^[2], 而解决其附着问题是提高厚壳贻贝产量的关键。

弧菌等形成微生物被膜可诱导厚壳贻贝的附着^[3-5]。例如, Yang等^[3]研究中发现, 一定密度的灿烂弧菌(*Vibrio splendidus*)形成的微生物被膜能够有效诱导厚壳贻贝幼虫的附着。灿烂弧菌

是长牡蛎(*Crassostrea gigas*)^[6]、沟纹蛤仔(*Ruditapes decussatus*)^[7]、刺参(*Apostichopus japonicus*)^[8]、牙鲆(*Paralichthys olivaceus*)^[9]等多种水产养殖对象的致病菌。在厚壳贻贝养殖过程中, 该菌是否会引起厚壳贻贝的疾病或影响其免疫功能还不得而知。

本实验将厚壳贻贝成贝暂养在含有不同浓度灿烂弧菌的灭菌海水中, 观察其体内的免疫相关酶和消化酶活性的变化, 以期查明该菌对厚壳贻贝免疫和消化性能的调控作用, 为该种的健康生态养殖提供技术支撑。

收稿日期: 2018-02-06 修回日期: 2018-04-09

资助项目: 国家重点研发计划政府间国际科技创新合作重点专项(2016YFE0131900); 上海高校水产高峰学科建设项目

通信作者: 杨金龙, E-mail: jlyang@shou.edu.cn

1 材料与方法

1.1 实验菌株

灿烂弧菌(ECSMB14105)分离自浙江省舟山市嵊泗县海域挂板形成的微生物被膜, 现保存于上海海洋大学水产与生命学院。

1.2 实验材料

实验用厚壳贻贝采自浙江省舟山市枸杞岛, 实验室暂养7日, 选取壳长、重量相近的厚壳贻贝进行正式实验。对照组为无灿烂弧菌感染组。实验组分为灿烂弧菌感染的3个不同浓度: 1×10^6 、 1×10^7 、 1×10^8 个/mL, 感染0、6、12、24、36、48、72 h后解剖厚壳贻贝鳃、足、消化腺, 放入液氮速冻, 保存于 -80°C 冰箱。

1.3 总蛋白的提取

先称样品质量, 加入4倍体积的蛋白裂解液(10 mmol/L Tris, 1% Tritonx-100, 5% Protease inhibitor cocktail), 冰上匀浆30 s, 4°C 条件10 000×g离心30 min, 上清即为可溶性蛋白, 取上清20 μL 稀释到100 μL 后用BCA试剂盒(生工, 中国), 以牛血清蛋白为标准品, 根据生产厂家的说明步骤测定样品中蛋白量。

1.4 免疫指标及消化酶活性的测定

所测免疫指标包括一氧化氮合酶(nitric oxide synthase, NOS)、一氧化氮(nitric oxide, NO)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)。所测消化酶有淀粉酶、蛋白酶。所有测定试剂均购自南京建成生物工程所(南京), 各项指标的测定参照说明书的具体步骤实施。

1.5 数据分析

采用SPSS 19.0软件进行单因素方差分析(One-Way ANOVA), 比较各组数据之间差异, 用Tukey's-b检测法进行多重比较。 $P < 0.05$ 为差异显著。

2 结果

2.1 厚壳贻贝足、鳃、消化腺NOS活性比较

各实验组均无厚壳贻贝死亡。相比对照组, 灿烂弧菌刺激48 h后成贝足部NOS活性无明显差异($P > 0.05$, 图1)。鳃部NOS活性在灿烂弧菌刺激后显著升高($P < 0.05$), 最高达到2.73 U/mg, 但不同灿烂弧菌密度下活性没有显著差异($P > 0.05$)。消化腺NOS活性随灿烂弧菌初始密度的升

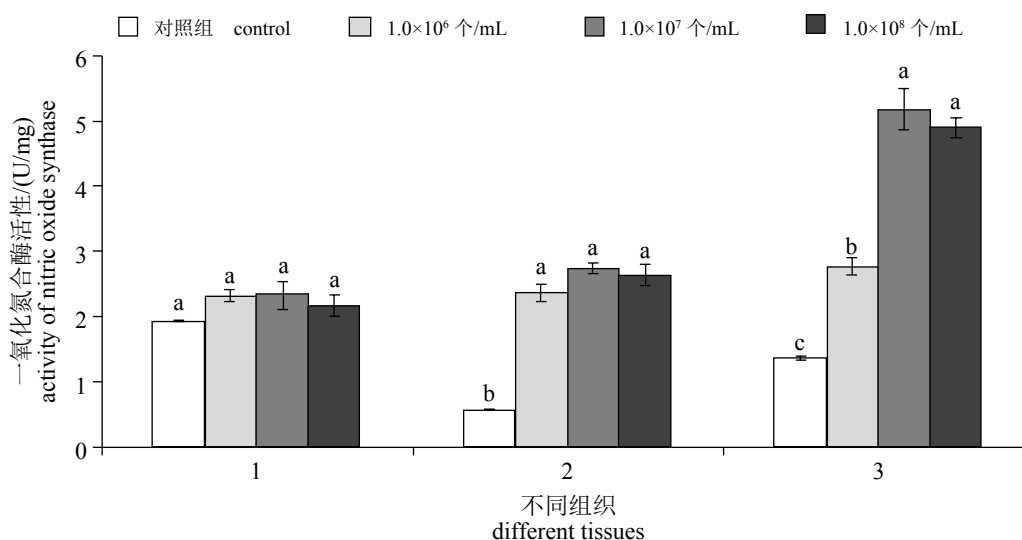


图1 灿烂弧菌刺激厚壳贻贝足、鳃、消化腺NOS活性的48 h后变化

1. 足, 2. 鳃, 3. 消化腺。不同字母表示差异显著($P < 0.05$)。下同

Fig. 1 Changes of nitric oxide synthase activity in the foot, gill and digestive gland of *M. coruscus* after the challenge of different concentrations of *V. splendidus*

The following are the same. 1. foot, 2. gill, 3. digestive gland. Values that are significantly different between each other at $P < 0.05$ are indicated by different letters above the bars

高而升高($P<0.05$), 在初始细菌浓度为 1×10^6 个/mL时, NOS活性为2.78 U/mg; 在初始细菌浓度为 1×10^7 个/mL时, NOS活性升高至5.10 U/mg且表现出显著性差异($P<0.05$); 当 1×10^8 个/mL时, NOS的活性与 1×10^7 个/mL时的活性无显著性差异($P>0.05$)。

2.2 免疫相关指标的变化

NOS活性的变化 当灿烂弧菌密度为 1×10^6 个/mL时, NOS活性在0~36 h时并无显著升高($P<0.05$), 48 h时升至最大值2.76 U/mg, 并在72 h时呈现下降趋势(图2-a)。当灿烂弧菌浓度为 1×10^7 、 1×10^8 个/mL时, NOS活性在0~24 h时并无显著升高($P>0.05$), 在36 h时出现升高, 48 h时达到最大值, 分别为5.15和4.90 U/mg, 并在72 h呈下降趋势。

NO含量的变化 与对照对比, 6 h时测试组NO含量明显增加($P<0.05$, 图2-b)。当初始细菌

浓度为 1×10^6 个/mL时, NO含量在6 h后开始下降, 在36 h时升高, 并在48 h处最高, 为52.68 $\mu\text{mol}/\text{mg}$ 。当灿烂弧菌浓度为 1×10^7 个/mL时, NO含量在6 h后开始下降, 但在36 h时升高, 48 h时NO含量达到最高, 为69.46 $\mu\text{mol}/\text{mg}$ 。当初始细菌浓度为 1×10^8 个/mL时, NO含量在6 h后开始下降, 但在36 h时陡然升高到最高, 为76.71 $\mu\text{mol}/\text{mg}$ 。

SOD活性的变化 灿烂弧菌的刺激均导致实验组SOD活性增加(图3-a)。当初始细菌浓度为 1×10^6 个/mL时, SOD活性在24 h时最高, 为56.70 U/mg。当初始灿烂弧菌为 1×10^7 个/mL时, SOD活活在0~36 h期间呈逐渐上升的趋势, 36 h时最高, 为59.40 U/mg, 48 h后活性呈下降趋势。当初始细菌浓度为 1×10^8 个/mL时, SOD活性在6 h时陡然升高到53.47 U/mg, 12 h时SOD活性明显下调($P<0.05$), 36 h时最高(54.82 U/mg), 48 h后活性下降。

MAD含量的变化 灿烂弧菌刺激均导致实验

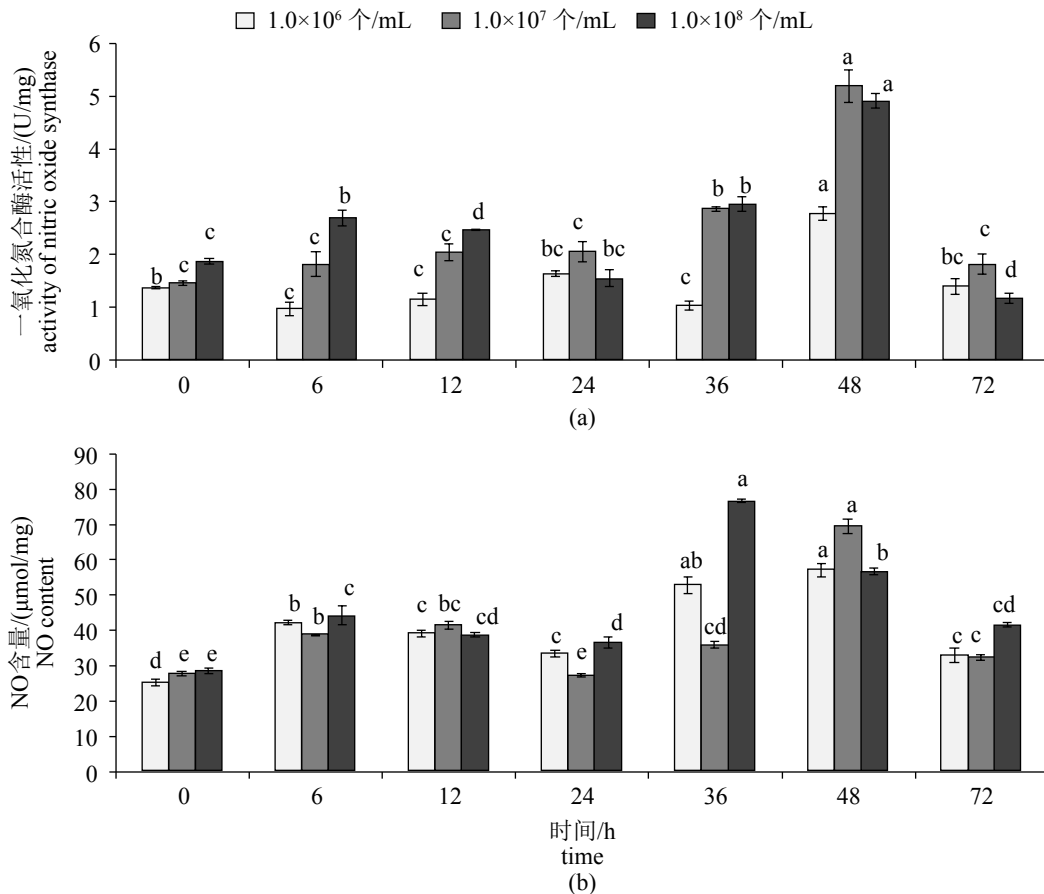


图2 灿烂弧菌刺激厚壳贻贝消化腺中NOS活性和NO含量的动态演替

Fig. 2 Changes of nitric oxide synthase activity and nitric oxide content of digestive glands of *M. coruscus* after the challenge of different concentrations of *V. splendidus*

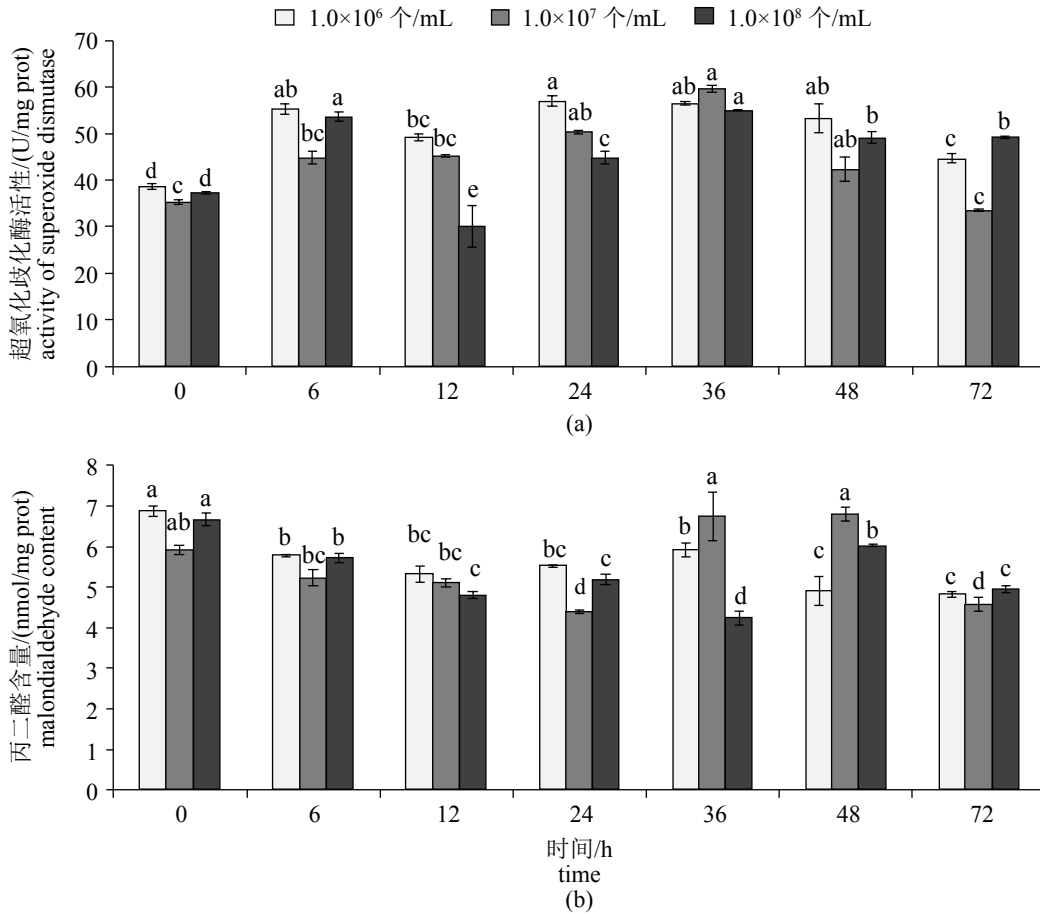


图3 灿烂弧菌刺激后消化腺SOD活性和MAD含量的变化

Fig. 3 Changes of superoxide dismutase activity and malondialdehyde content of digestive glands of *M. coruscus* after the challenge of different concentrations of *V. splendidus*

组MAD含量的降低(图3-b)。当灿烂弧菌初始密度为 1×10^6 个/mL时, MAD含量在6~72 h时含量呈逐步降低趋势, 到72 h时含量最低, 为4.81 nmol/mg; 1×10^7 个/mL时, MAD含量在6~24 h时呈逐步下降趋势, 在36 h、48 h时与对照组的MAD含量无差异($P > 0.05$); 当初始细菌浓度为 1×10^8 个/mL时, MAD含量在实验开始至36 h时含量呈逐步降低趋势, 在48 h时含量反弹显著上调($P < 0.05$), 72 h时下降。

2.3 消化酶的比较

淀粉酶活性的变化 当灿烂弧菌初始浓度为 1×10^6 个/mL时, 0~36 h的淀粉酶活性呈缓慢降低的趋势; 36 h时最低, 为0.62 U/mg; 48 h时活性反弹上升到对照组相同水平($P > 0.05$); 随后又降低(图4-a)。当初始细菌浓度为 1×10^7 个/mL时, 实验组的淀粉酶活性在6 h后均低于对照组($P < 0.05$); 当初始细菌浓度为 1×10^8 个/mL时, 实

验组的淀粉酶活性均低于对照组, 且酶活性随时间降低到24 h降到最低, 为0.75 U/mg, 到36 h时开始升高($P < 0.05$), 到48 h时升至0.96 U/mg, 并在72 h时再次降低。

蛋白酶的活性 实验组中蛋白酶的活性整体呈现先升高后降低的趋势(图4-b)。当灿烂弧菌浓度为 1×10^6 个/mL时, 6 h时蛋白酶的活性最高, 为2.51 U/mg。相比对照组, 灿烂弧菌 1×10^7 个/mL浓度组的蛋白酶活性均显著上升($P < 0.05$), 在12、24 h时蛋白酶的活性较高, 分别为3.74和3.55 U/mg; 当初始细菌浓度为 1×10^8 个/mL时, 6、12 h时的蛋白酶活性显著高于对照组($P < 0.05$), 分别为1.73和1.76 U/mg。

3 讨论

以往对贝类的研究中发现, 灿烂弧菌感染导致长牡蛎幼虫24 h内的死亡率高达100%^[6]; 灿

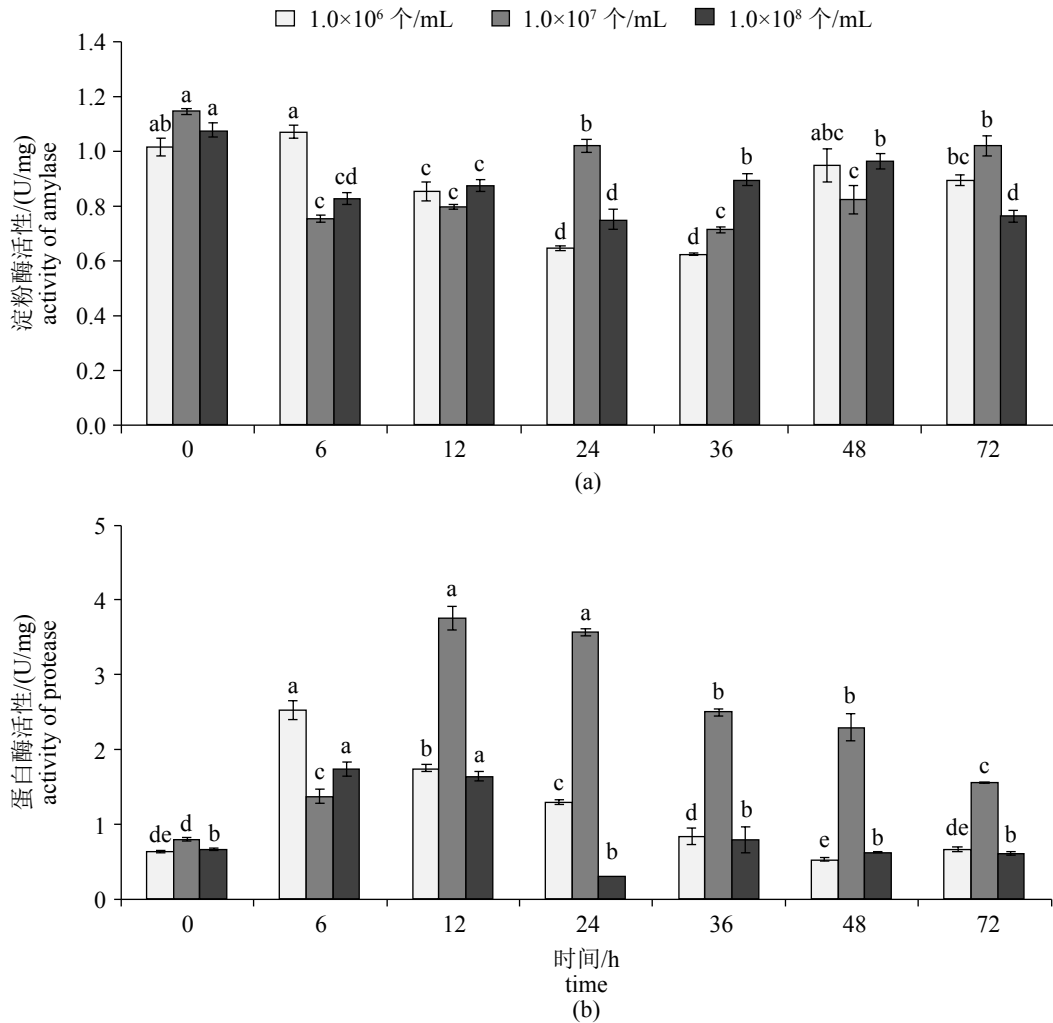


图4 灿烂弧菌刺激后厚壳贻贝消化酶的变化

Fig. 4 Changes of digestive enzyme of digestive glands of *M. coruscus* after the challenge of different concentrations of *V. splendidus*

烂弧菌感染沟纹蛤仔稚贝一个月后，其死亡率高达48%^[7]。除贝类外，灿烂弧菌可导致刺参的腐皮综合症，其幼苗感染后的死亡率可达90%^[8]。本实验中，各实验组贻贝均未出现异常或死亡现象，可能是由于实验采用的厚壳贻贝成贝，或者灿烂弧菌引起了厚壳贻贝的免疫反应起到了自我保护的作用。

NOS的作用是将底物L-精氨酸和氧分子分解产生L-瓜氨酸和NO。NO主要是通过O₂⁻、H₂O₂、OH⁻等氧自由基结合，生成强氧化基，使细菌的双链DNA断裂，释放2价铁离子，以及使抗氧化的谷胱甘肽耗尽，达到杀菌的作用，从而对生物体起到免疫调节的作用^[10]。因此，NOS活性的高低影响NO含量的多少，从而体现免疫应激反

应的情况。本实验比较了灿烂弧菌感染48 h后，厚壳贻贝足、鳃、消化腺等3个组织NOS的变化情况，发现足部NOS活性无显著变化；厚壳贻贝鳃部NOS酶活性显著增加，但其活性不随初始灿烂弧菌密度改变而变化；相对比而言，消化腺NOS活性随初始灿烂弧菌浓度的升高而发生变化。因而，厚壳贻贝消化腺对灿烂弧菌刺激的应答，比鳃、足更明显。因此，我们选用了消化腺来测试不同浓度灿烂弧菌刺激下，其免疫指标和消化酶活性72 h内的变化。研究发现副溶血弧菌感染斜带石斑鱼后，血清中NOS活性在24 h内明显升高^[11]。同样，副溶血弧菌感染九孔鲍后，血清中的NOS活性和NO含量均有升高，分别在12和48 h时达到最大值^[12]。本实验中，感染

厚壳贻贝NOS活性在36 h前增加, 48 h时最高。作为NOS的产物, NO的含量, 在24 h前变化并不明显, 在36~48 h期间含量升高达到最大值, 与NOS的变化趋势相同。本实验结果与以往的研究结果大致相符, 说明NOS可有效应答灿烂弧菌的刺激, 提高自己的自我保护能力。

SOD在机体的免疫过程中, 起到杀伤、抑制病原和对机体进行自我保护的功能, 当细胞受到细菌刺激时, 细胞内的活性氧上调, SOD可清除机体内活性氧的作用以便阻止细胞受损^[13-15]。本实验发现, 灿烂弧菌刺激后, 厚壳贻贝SOD活性较对照组有显著升高, 在刺激6~36 h期间SOD活性有明显升高。MAD作为SOD的催化底物, SOD活性的升高, 对应着MAD含量的降低。本实验中MAD含量6 h时降低, 且在36 h内是持续下降, 与SOD活性变化相对应。以往发现, 栉孔扇贝(*Chlamys farreri*)在温度和鳃弧菌(*Vibrio anguillarum*)胁迫下, SOD活性在48 h内显著升高^[16], 这与本研究发现相符, 表明厚壳贻贝可有效应答灿烂弧菌的刺激, 并提高自身的抗氧化自我保护能力。

De Schrijver等^[17]实验发现, 解蛋白弧菌(*Vibrio proteolyticus*)可以提高大菱鲆(*Scophthalmus maximus*)对蛋白的消化能力。在本实验中, 灿烂弧菌刺激后48 h内, 厚壳贻贝淀粉酶活性呈下降趋势; 蛋白酶活性变化与之相反, 蛋白酶活性在灿烂弧菌刺激后12 h内呈升高趋势, 之后开始下降。因而, 灿烂弧菌能提高其对厚壳贻贝蛋白的消化能力, 并影响其对淀粉的消化。以往实验中用溶藻弧菌(*Vibrio alginolyticus*)投喂凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*), 会使其肝胰腺的淀粉酶活性显著降低, 且蛋白酶活性显著升高^[18], 这与本实验结果一致。

综上所述, 在一定浓度范围内使用灿烂弧菌在72 h内对厚壳贻贝死亡无影响, 且提高厚壳贻贝的免疫相关酶水平, 对蛋白消化能力有所提升。本实验对于解析海洋细菌和厚壳贻贝相互作用关系以及厚壳贻贝的免疫机制研究提供理论基础, 同时为该种等经济贝类健康生态养殖提供技术支撑。

参考文献:

- [1] 常亚青. 贝类增殖学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2007.

Chang Y Q. Shellfish Culture[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2007 (in Chinese).

- [2] 常抗美, 吴剑锋. 厚壳贻贝人工繁殖技术的研究[J]. 南方水产, 2007, 3(3): 26-30.

Chang K M, Wu J F. Study on artificial propagation of mussel *Mytilus coruscus*[J]. South China Fisheries Science, 2007, 3(3): 26-30(in Chinese).

- [3] Yang J L, Shen P J, Liang X, et al. Larval settlement and metamorphosis of the mussel *Mytilus coruscus* in response to monospecific bacterial biofilms[J]. Biofouling, 2013, 29(3): 247-259.

- [4] 黄道芬, 梁箫, 彭莉华, 等. 不同来源海洋弧菌微生物被膜对厚壳贻贝稚贝附着的影响[J]. 水产学报, 2017, 41(7): 1140-1147.

Huang D F, Liang X, Peng L H, et al. Effects of *Vibrio* biofilms of different sources on settlement of plantigrades of the mussel *Mytilus coruscus*[J]. Journal of Fisheries of China, 2017, 41(7): 1140-1147(in Chinese).

- [5] 孙俊杰, 梁箫, 郭行磐, 等. 培养基对微生物被膜形成和厚壳贻贝附着的影响[J]. 水产学报, 2016, 40(8): 1229-1238.

Sun J J, Liang X, Guo X P, et al. Effects of culture media on the biofilm formation and subsequent settlement of *Mytilus coruscus*[J]. Journal of Fisheries of China, 2016, 40(8): 1229-1238(in Chinese).

- [6] Sugumar G, Nakai T, Hirata Y, et al. *Vibrio splendidus* biovar II as the causative agent of bacillary necrosis of Japanese oyster *Crassostrea gigas* larvae[J]. Diseases of Aquatic Organisms, 1998, 33(2): 111-118.

- [7] Gómez-León J, Villamil L, Lemos M L, et al. Isolation of *Vibrio alginolyticus* and *Vibrio splendidus* from aquacultured carpet shell clam (*Ruditapes decussatus*) larvae associated with mass mortalities[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2005, 71(1): 98-104.

- [8] 王印庚, 荣小军, 张春云, 等. 养殖海参主要疾病及防治技术[J]. 海洋科学, 2005, 29(3): 1-7.

Wang Y G, Rong X J, Zhang C Y, et al. Main diseases of cultured *Apostichopus japonicus*: Prevention and treatment[J]. Marine Sciences, 2005, 29(3): 1-7.

- [9] 莫照兰, 茅云翔, 陈师勇, 等. 养殖牙鲆鱼苗腹水症病原菌的鉴定及系统发育学分析[J]. 海洋与湖沼, 2003, 34(2): 131-141.

Mo Z L, Mao Y X, Chen S Y, et al. Identification and phylogenetic analysis of one pathogenic bacterium asso-

- ciated with swollen abdomen of cultured flounder (*Paralichthys olivaceus*) larvae[J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2003, 34(2): 131-141(in Chinese).
- [10] Pacelli R, Wink D A, Cook J A, *et al.* Nitric oxide potentiates hydrogen peroxide-induced killing of *Escherichia coli*[J]. *Journal of Experimental Medicine*, 1995, 182(5): 1469-1479.
- [11] 王广军, 谢骏, 余德光, 等. 副溶血弧菌对斜带石斑鱼血清中一氧化氮合酶活力的影响[J]. *海洋渔业*, 2005, 27(1): 60-63.
Wang G J, Xie J, Yu D G, *et al.* Effect of *Vibrio parahaemolyticus* on nitric oxide synthase activity in serum of *Epinephelus coioides*[J]. *Marine Fisheries*, 2005, 27(1): 60-63(in Chinese).
- [12] 王广军, 谢骏, 余德光. 副溶血弧菌对九孔鲍血清中一氧化氮及一氧化氮合酶活力的影响[J]. *上海水产大学学报*, 2005, 14(3): 238-241.
Wang G J, Xie J, Yu D G. Effects of *Vibrio parahaemolyticus* on serum nitric oxide concentration and nitric oxide synthase activity of *Haliotis diversicolor supertexta*[J]. *Journal of Shanghai Fisheries University*, 2005, 14(3): 238-241(in Chinese).
- [13] Pipe R K, Porte C, Livingstone D R. Antioxidant enzymes associated with the blood cells and haemolymph of the mussel *Mytilus edulis*[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 1993, 3(3): 221-233.
- [14] Holmblad T, Söderhäll K. Cell adhesion molecules and antioxidative enzymes in a crustacean, possible role in immunity[J]. *Aquaculture*, 1999, 172(1-2): 111-123.
- [15] Li Y F, Gu Z Q, Liu H, *et al.* Biochemical response of the mussel *Mytilus coruscus* (Mytiloidea: Mytilidae) exposed to in vivo sub-lethal copper concentrations[J]. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, 2012, 30(5): 738-745.
- [16] Wang X Q, Wang L L, Zhang H, *et al.* Immune response and energy metabolism of *Chlamys farreri* under *Vibrio anguillarum* challenge and high temperature exposure[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2012, 33(4): 1016-1026.
- [17] De Schrijver R, Ollevier F. Protein digestion in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*) and effects of dietary administration of *Vibrio proteolyticus*[J]. *Aquaculture*, 2000, 186(1-2): 107-116.
- [18] 许玉洁, 单洪伟, 马甦. 芽孢杆菌和溶藻弧菌对凡纳滨对虾消化酶、免疫酶活力及抗病力的影响[J]. *中国海洋大学学报(自然科学版)*, 2015, 45(5): 46-53.
Xu Y J, Shan H W, Ma S. Effects of *Bacillus* sp. and *Vibrio alginolyticus* on the activities of digestive and immune enzymes disease resistance of *Litopenaeus vannamei*[J]. *Periodical of Ocean University of China*, 2015, 45(5): 46-53(in Chinese).

Influence of *Vibrio splendidus* on immune indexes and digestive enzyme activity of *Mytilus coruscus*

LIANG Xiao^{1,2,3}, ZHANG Ya^{1,2}, LIU Yuzhu^{1,2}, LI Yifeng^{1,2,3},
BATISTA M F⁴, POWER D⁴, YANG Jinlong^{1,2,3*}

(1. International Research Center for Marine Biosciences, Ministry of Science and Technology,
Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

2. Key Laboratory of Exploration and Utilization of Aquatic Genetic Resources,
Ministry of Education, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

3. National Demonstration Center for Experimental Fisheries Science Education,
Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

4. Centre of Marine Sciences, University of Algarve, Faro, Portugal)

Abstract: *Mytilus coruscus* adults were challenged by *Vibrio splendidus* in three concentrations (1×10^6 cell/mL, 1×10^7 cell/mL, 1×10^8 cell/mL). The changes of immune indexes including nitric oxide synthase (NOS), nitric oxide (NO), superoxide dismutase (SOD) and malondialdehyde (MAD), and digestive enzyme activities including amylase and protease in digestive gland were determined during 72 h experiment period. The activities of NOS in foot, gill and digestive gland were measured after experimental challenges of 48 h. Only the activity of NOS in the digestive gland was significantly different from the control group, and the activity of NOS increased with the increase of initial concentration of *V. splendidus*. The activity of NOS of digestive gland in the treatment group was significantly higher than that of the control group after the challenge of *V. splendidus*, and the level of NOS significantly increased after 48 h. The content of NO was significantly higher than that in the control group. The content of NO increased first and then decreased, which had a similar trend with the activity of NOS. The activity of SOD was significantly higher compared with that of the control group after the challenge of *V. splendidus*. The content of MAD in the treatment group was significantly lower than that in the control group after the challenge of bacteria. The activity of amylase in the treatment group was significantly lower than that in the control group. The activity of amylase descended first and then increased. The change of protease activity in the treatment group increased first and then decreased. This study indicates that *V. splendidus* can promote the immune indexes and protease activity and inhibit amylase activity. The present study provides useful information for clarifying the immune mechanism of *M. coruscus* and *Vibrio*-mussel interactions.

Key words: *Mytilus coruscus*; *Vibrio splendidus*; immune index; digestive enzyme

Corresponding author: YANG Jinlong. E-mail: jlyang@shou.edu.cn

Funding projects: Key Program for International Science and Technology Cooperation Projects of Ministry of Science and Technology of China (2016YFE0131900); Peak Discipline Program for Fisheries from the Shanghai Municipal Government