

2 株南极海洋寡营养细菌(*Alteromonas stellipolaris*) 脂多糖对三疣梭子蟹(*Portunus trituberculatus*) 非特异性免疫活性的影响*

杨季芳^{1, 2, 3} 郭卢云^{1, 2, 3} 陈福生¹ 王海丽^{2, 3}

(1. 华中农业大学食品科学技术学院 武汉 430070; 2. 宁波市微生物与环境工程重点实验室 宁波 315100;
3. 浙江万里学院生物与环境学院 宁波 315100)

提要 从 2 株南极海洋寡营养细菌(*Alteromonas stellipolaris*, 菌株 AT82 和 AT52)中提取脂多糖(Lipopolysaccharide, LPS), 分不同处理组免疫注射三疣梭子蟹, 在免疫后第 3、6、9、12 天分别检测梭子蟹血清的抗菌活力、溶菌酶活力、超氧化物歧化酶活力、酚氧化酶活力和过氧化物酶活力等非特异性免疫指标的变化。结果表明, 自 2 株南极寡营养细菌提取的脂多糖均能显著提高梭子蟹血清中的抗菌活力、溶菌酶活力、超氧化物歧化酶活力、酚氧化酶活力和过氧化物酶活力等指标($P < 0.05$)。各种酶活力出现峰值的时间不同, 且 AT82 脂多糖注射组比 AT52 脂多糖注射组的非特异性免疫增强效果更好。上述物质表现的体内免疫作用机理和最佳免疫剂量有待于进一步研究。

关键词 南极海洋寡营养细菌, 脂多糖, 三疣梭子蟹, 非特异性免疫

中图分类号 S968.25+2

三疣梭子蟹(*Portunus trituberculatus*)是我国海产经济蟹类, 营养丰富, 经济价值高。近年来, 随着养殖规模的不断扩大, 各种病害也接踵而至, 并呈现出大规模发生和暴发性流行的趋势(李长红等, 2008), 严重阻碍了三疣梭子蟹养殖业健康发展。蟹类机体在抵抗入侵的病原生物过程中, 主要依靠其非特异性免疫防御系统, 该系统由参与免疫反应的血淋巴细胞和体液因子组成。近年来, 国内外一些学者从免疫学角度对蟹病防治进行了研究, 试图通过免疫刺激剂增强蟹自身的免疫系统, 提高机体防御能力而达到防治疾病的目的, 这方面的研究已取得良好效果(徐镇等, 2005; 沈锦玉等, 2004; 陈昌福等, 2003; Smith *et al.*, 2003)。南极海洋细菌对极端寡营养环境的长期适应, 已发展出独特的代谢方式、细胞结构和

防御体系, 可以产生陆地微生物中罕见的免疫活力物质和先导化合物, 如多不饱和脂肪酸、抗菌物质、抗冻物质及多种低温酶等, 这些物质为免疫增强剂的研究和开发提供了广阔的前景(Fujiwara, 2002; Joris *et al.*, 2001; David *et al.*, 2001; 王海丽等, 2009)。

有关细菌 LPS 对水产动物免疫活力的研究已有较多报道(周永灿等, 2002; Swain *et al.*, 2008; 徐海华, 2007¹⁾; 王海丽等, 2009)。本文以 2 株南极寡营养细菌(*Alteromonas stellipolaris*, 菌株 AT82 和 AT52)为供试菌株, 提取其脂多糖(Lipopolysaccharide, LPS), 研究其对三疣梭子蟹非特异性免疫功能的影响。本文是有关南极细菌对三疣梭子蟹非特异性免疫功能的首次报道, 研究结果期望为甲壳动物新型免疫增强剂的研制与筛选提供依据。

* 国家科技部国际合作重点资助项目, 2007DFA21300 号; 中德政府海洋科学双边合作项目, BMBF CHN 00/19 号; 宁波市科技局重大招标项目, 2007C11002 号; 浙江省教育厅项目, Y200803277 号。杨季芳, 研究员, E-mail: jfkw1q@163.com

1) 徐海华, 2007. 致病菌 OMP 和 LPS 对鱼类免疫防御功能调节作用的研究. 武汉: 华中农业大学硕士学位论文, 2—4

收稿日期: 2010-05-28, 收修改稿日期: 2010-07-25

1 材料与方 法

1.1 南极海洋寡营养细菌 AT52 和 AT82 的培养

南极海洋寡营养细菌 (*Alteromonas stellipolaris*) AT52 和 AT82 由德国 AWI 极地与海洋研究所 Dr. Tjhing. Lok Tan 惠赠。AT52 和 AT82 的培养采用改良的 Zobell 2216E 固体培养基(Trappen *et al.*, 2004), 9 培养 7d 后用于脂多糖的制备。

1.2 供试蟹及饲养条件

供试三疣梭子蟹购自浙江省宁海县某养殖塘, 蟹体健康, 体重范围为(150±20)g, 于 60cm×50cm×40cm 的水族箱中暂养 7d 后进行试验。暂养水体为人工海水, 水温(15±1), 盐度 20±1, pH 8.0±0.1, 且不间断充气。将虾肉切块后每天投喂 1 次, 每天及时除去排泄物, 换水 50%。

1.3 LPS 的制备

LPS 的制备参照 Eidhin 等(1993)的方法, 增加了 DNA 酶和 RNA 酶去除核酸程序。

1.4 试验处理

3 个处理组: 灭菌生理盐水注射组, AT52 LPS 注射组(2mg/kg), AT82 LPS 注射组(2mg/kg), 每 100g 蟹体重注射 0.2ml, 每组设 4 个重复, 各组三疣梭子蟹分别在注射后第 3、6、9、12 天从三疣梭子蟹第三或第四步足基部软膜处收集血淋巴, 置于 Eppendorf 管中 4 过夜, 经冷冻高速离心机离心后吸出血清待测。

1.5 非特异性免疫指标的测定

1.5.1 抗菌活力 以大肠杆菌(*Escherichia coli*, 杭州微生物菌种保藏中心)为底物, 参照 Boman(1974)和 Hultmark(1980)的方法测定供试梭子蟹血清的抗菌活力。按下式计算抗菌活力(U_a): $U_a = [(A_0 - A) / A]^{1/2}$ 。

1.5.2 溶菌酶(LSZ)活力 以溶壁微球菌(*Micrococcus lysodeikticus*)冻干粉(Sigma 公司)为底物, 参照 Hultmark(1980)的方法测定供试梭子蟹血清的溶菌酶活力。按下式计算溶菌酶活力(U_L): $U_L = (A_0 - A) / A_0$ 。

1.5.3 酚氧化酶(PO)活力 以 L-2-多巴为底物, 参照陆宏达等(2007)的方法测定供试梭子蟹血清的酚氧化酶活力, 在 30min 内以平均每分钟吸光值增加 0.001 作为一个酶活力单位。

1.5.4 过氧化物酶(POD)相对活力 参照史成银等(1999)的方法测定供试梭子蟹血清的过氧化物酶相对活力。按下式计算过氧化物酶相对活力(U_{POD}): $U_{POD} = A_2 - A_1$ 。

1.5.5 超氧化物歧化酶(SOD)、酸性磷酸酶(ACP)和碱性磷酸酶(ALP)活力 参照南京建成生物公司生产试剂盒的要求分别进行测定, 但将反应改在 96 孔酶标板中进行, 各种试剂及血清的使用量定为试剂盒标准量的 1/10。

1.6 数据处理

数据用 Excel 和统计软件 SPSS11.5 处理, 不同采样时间分别进行单因素方差分析(ANOVA)差异显著时, 用 LSD 的 Tukey's 检验法进行均值间多重比较, $P < 0.05$ 时表示差异显著。

2 结果

2.1 LPS 对三疣梭子蟹血清抗菌活力的影响

由图 1 可知, 在注射 AT82 和 AT52 LPS 后的第 3、6、9 天, 两个 LPS 注射组的抗菌活力均显著高于生理盐水组($P < 0.05$), 且第 6 天达到峰值, 但 AT82 和 AT52 LPS 注射组间的抗菌活力无显著差异。第 12 天试验结束时, 各注射组间的抗菌活力无显著差异($P > 0.05$)。生理盐水注射组的梭子蟹血清抗菌活力在试验过程中无显著性变化。

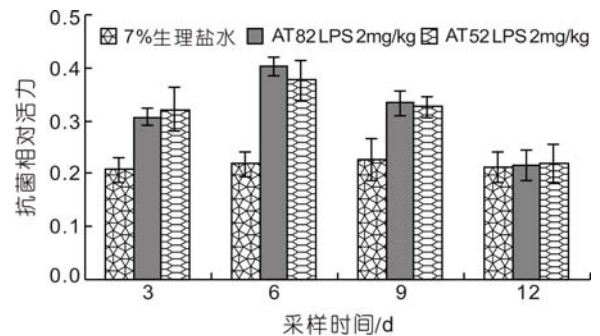


图 1 不同免疫时间各处理组对梭子蟹血清抗菌活力的比较(平均值±标准差)

Fig.1 Comparison of antimicrobial activities in the serum of *P. trituberculatus* after infected the serum with different antigens (mean±S.D.)

2.2 LPS 对三疣梭子蟹血清溶菌酶(LSZ)活力的影响

由图 2 可知, 在注射 AT82 和 AT52 LPS 后第 3、6 天, 两个 LPS 注射组的 LSZ 活力均显著高于生理盐水($P < 0.05$), 注射组在第 6 天达到峰值, 且 AT82 LPS 注射组的 LSZ 活力显著高于 AT52 LPS 注射组。第 9 天时, 两个 LPS 注射组 LSZ 活力有所下降, 但仍显著高于生理盐水组($P < 0.05$), 两个 LPS 注射组间无显著差异($P > 0.05$)。第 12 天时, 各注射组间 LSZ 活力无显著差异($P > 0.05$)。生理盐水注射组的梭子蟹血清 LSZ

活力在试验过程中无显著性变化。

2.3 LPS 对三疣梭子蟹血清酚氧化酶(PO)活力的影响

由图 3 可知, 在注射 AT82 和 AT52 LPS 后第 3 天, 与生理盐水组相比, 两个 LPS 注射组的血清 PO 活力均有所下降, PO 活力受到抑制。第 6 天时, 两个 LPS 注射组的血清 PO 活力均有增加, 且 AT82 LPS 注射组的 PO 活力显著高于生理盐水组($P<0.05$)。第 9 天, AT52 和 AT82 LPS 组的 PO 活力均显著高于生理盐水组($P<0.05$), 且 AT82 LPS 组的 PO 活力显著高于 AT52 LPS 组($P<0.05$), 对 PO 活力呈现显著增强作用。第 12 天试验结束时, 两个 LPS 注射组的 PO 活力有所下降, 但 AT82 LPS 组仍高于生理盐水组和 AT52 LPS 组, 且差异显著($P<0.05$), AT52 LPS 组的 PO 活力略低于生理盐水组水平($P>0.05$)。生理盐水注射组的梭子蟹血清 PO 活力在试验过程中无显著性变化。

2.4 LPS 对三疣梭子蟹血清过氧化物酶(POD)相对活力的影响

由图 4 可知, 在注射 AT82 和 AT52 LPS 后第 3

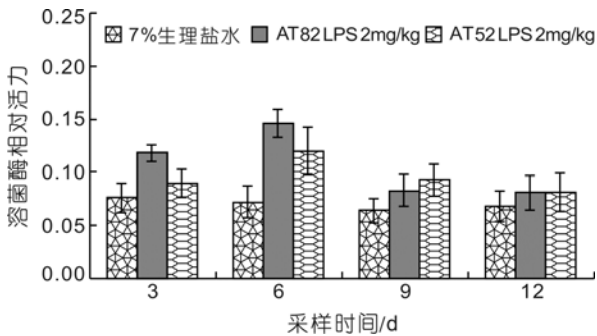


图 2 不同免疫时间各处理组对梭子蟹溶菌酶活力的比较(平均值±标准差)

Fig.2 Comparison of lysozyme (LSZ) activities in the serum of *P. trituberculatus* after infected the serum with different antigens (mean±S.D.)

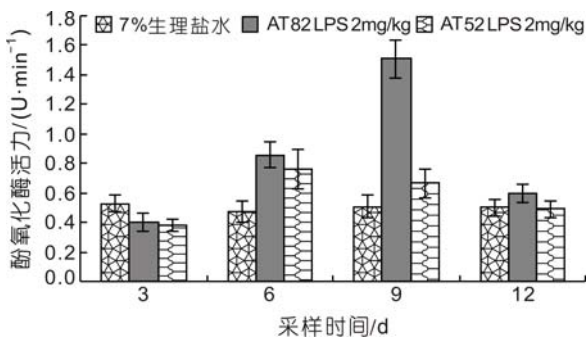


图 3 不同免疫时间各处理组对梭子蟹酚氧化酶活力的比较(平均值±标准差)

Fig.3 Comparison of phenoloxidase (PO) activities in the serum of *P. trituberculatus* after infected the serum with different antigens (mean±S.D.)

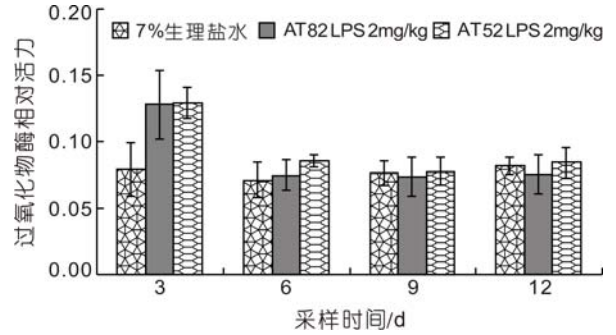


图 4 不同免疫时间各处理组对梭子蟹血清过氧化物酶相对活力的比较(平均值±标准差)

Fig.4 Comparison of relative activities of peroxidase (POD) in the serum of *P. trituberculatus* after infected with different antigens (mean±S.D.)

天, AT82 和 AT52 LPS 注射组的 POD 活力显著高于生理盐水组($P<0.05$), 两个 LPS 注射组间无显著性差异($P>0.05$)。第 6、9、12 天, 两个 LPS 注射组的 POD 活力均有所下降, 且各注射组间的 POD 活力无显著差异($P>0.05$)。生理盐水注射组的梭子蟹血清 POD 活力在试验过程中无显著性变化。

2.5 LPS 对三疣梭子蟹血清超氧化物歧化酶(SOD)活力的影响

由图 5 可知, 在注射 AT82 和 AT52 LPS 后第 3 天, AT52 和 AT82 LPS 注射组的 SOD 活力均显著高于生理盐水组($P<0.05$), 且 AT82 LPS 注射组 SOD 活力显著高于 AT52 LPS 注射组。第 9 天时, 两个 LPS 注射组的 SOD 活力均显著高于生理盐水组($P<0.05$), 且达到峰值, AT82LPS 注射组的 SOD 活力显著高于 AT52LPS 注射组($P<0.05$)。第 12 天试验结束时, 两个 LPS 注射组的 SOD 活力均显著高于生理盐水组($P<0.05$), 且两个 LPS 注射组的 SOD 活力无显著性差异

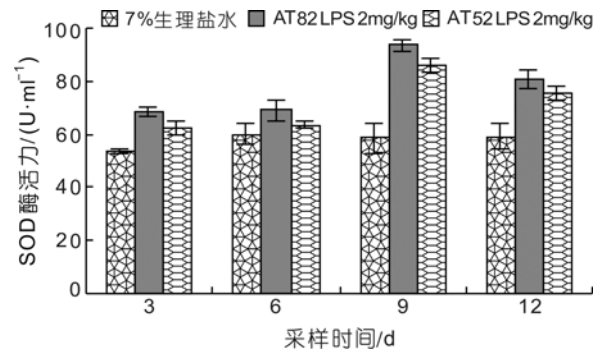


图 5 不同免疫时间各处理组对梭子蟹血清 SOD 酶活力的比较(平均值±标准差)

Fig.5 Comparison of superoxide dismutase activities in the serum of *P. trituberculatus* after infected with different antigens (mean±S.D.)

($P>0.05$)。生理盐水注射组的梭子蟹血清 SOD 活力在试验过程中无显著性变化。

2.6 LPS 对三疣梭子蟹血清酸性磷酸酶(ACP)活力的影响

由图 6 可知, 在注射 AT82 和 AT52 LPS 后的试验周期内, AT52 和 AT82 两个 LPS 注射组始终显著高于生理盐水组($P<0.05$), 且在第 9 天达到峰值。在第 6 天时, AT82 LPS 注射组的 ACP 活力显著高于 AT52 LPS 注射组($P<0.05$)。生理盐水注射组的梭子蟹血清 ACP 活力在试验过程中无显著性变化。

2.7 LPS 对三疣梭子蟹血清碱性磷酸酶(AKP)活力的影响

由图 7 可知, 在试验周期内, AT82 和 AT52 LPS 注射组 AKP 活力均显著高于生理盐水组($P<0.05$), 且在第 9 天达到峰值。第 12 天时, 两个 LPS 注射组的 AKP 活力大幅下降。在第 3、6、12 天时, AT82 LPS 注射组的 AKP 活力显著高于 AT52 LPS 注射组($P<$

0.05)。生理盐水注射组的梭子蟹血清 AKP 活力在试验过程中无显著性变化。

3 讨论

目前研究认为蟹类与其他甲壳类动物一样, 体液中不具有免疫球蛋白, 缺乏抗体介导的免疫反应, 机体的免疫防御机能主要包括血细胞的吞噬、包掩、伤口修复等作用以及血淋巴中的一些酶(如溶菌酶、酚氧化酶、超氧化物歧化酶等)或因子(如凝集素、溶血素等)的杀菌、抗菌、抗病毒作用(徐海圣等, 2001)。溶菌酶是甲壳动物非特异性免疫系统的重要成分, 能水解革兰氏阳性细菌细胞壁中粘肽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, 破坏和消除侵入体内的异物(Paige *et al*, 2000)。酚氧化酶具有调理促进甲壳类动物血细胞吞噬、包囊、结节形成、黑化、介导凝集和凝固、产生杀菌物质以及伤口的愈合等作用, 大多数甲壳类动物的酚氧化酶以非激活状态的酚氧化酶原(proPO)的形式存在于血淋巴中(Söderhäll *et al*, 1998)。Söderhäll 等(2002)曾报道了细菌内毒素即 LPS 可以促使机体产生一种激活蛋白酶, 从而使无活性 proPO 转化为有活性 PO。抗菌活力也是细胞和体液免疫的综合体现, 反映了机体对外源微生物侵染的防御能力(陆宏达等, 2007)。ACP 是动物体内巨噬细胞溶酶体的标志酶, 也是甲壳动物溶酶体酶的重要组成部分, 它通过水解作用将表面带有磷酸酯的异物破坏清除掉。AKP 水平的提高, 可以加速相应组织的物质代谢, 为 ADP 磷酸化形成 ATP 提供所需的无机磷, 积累更多的能量(周进等, 2004)。本研究以不同免疫时间测定抗菌活力、溶菌酶活力, 酚氧化酶活力和 SOD 酶活力等 7 个各免疫指标的变化来反映南极海洋寡营养细菌 AT52 和 AT82 的 LPS(总糖含量为 30%)对三疣梭子蟹非特异性免疫功能的影响, 是较为全面和可靠的。

目前已经对南极细菌及其产物的特性有了部分的研究(Ricardo *et al*, 2002; Giudice *et al*, 2008)。本研究表明, 以 2mg/kg 蟹体重的剂量对梭子蟹注射 AT52 和 AT82 脂多糖, 在不同的免疫时间可以显著增加梭子蟹血清的 LSZ、SOD、ACP、AKP 酶活力和抗菌活力, 各种酶活力出现峰值的时间有所不同, 这与已报道的植物多糖、细菌肽聚糖、酵母-葡聚糖和部分致病菌 LPS 可促进水产动物的非特异性免疫力相一致(Brankica *et al*, 2008; Paulsen *et al*, 2001; 周永灿等, 2002), 但是对血清 PO 活力的结果与多数免

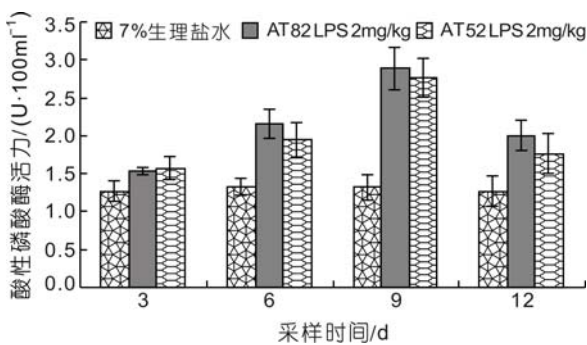


图 6 不同免疫时间各处理组对梭子蟹血清酸性磷酸酶活力的比较(平均值±标准差)

Fig.6 Comparison of acid phosphatase (ACP) activities in the serum of *P. trituberculatus* after infected with different antigens (mean±S.D.)

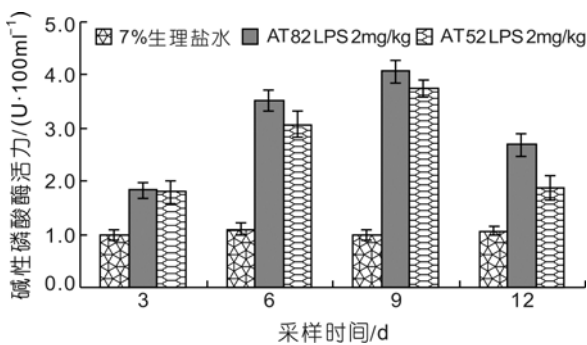


图 7 不同免疫时间各处理组对梭子蟹血清碱性磷酸酶活力的比较(平均值±标准差)

Fig.7 Comparison of alkaline phosphatase (AKP) activities in the serum of *P. trituberculatus* after infected with different antigens (mean±S.D.)

疫增强剂能快速地刺激甲壳动物血清 PO 活力增加的结果不尽一致,其原因可能与本实验使用的 LPS 剂量偏大有关,随着刺激时间的推移,血细胞对稍过量的 LPS 的刺激已能接受,进而促进了胞内 PO 的释放,使后期血清 PO 活性较生理盐水组显著增加,这与王雪良(2008)¹⁾的结果相一致。而且注射 AT82 脂多糖注射组对大多数非特异性免疫指标的刺激效果优于 AT52 LPS 注射组,部分指标的增强效果略高于已报道的免疫增强剂的免疫效果。其原因可能与南极寡营养细菌的生物结构多样性有关。本实验供试菌株的 LPS 增强梭子蟹非特异性免疫机制和最佳免疫剂量有待进一步研究。

参 考 文 献

- 王海丽, 杨季芳, 2009. 南极超微细菌 ANT52(*Alteromonas stellipolaris*)外膜蛋白和脂多糖的提取物对黑鲟的免疫活性研究. 海洋与湖沼, 40(2): 242—248
- 史成银, 黄 捷, 宋晓玲, 1999. 对虾皮下及造血组织坏死杆状病毒单克隆抗体的 ELISA 快速检测. 中国水产科学, 6(3): 116—118
- 李长红, 金 珊, 2008. 三疣梭子蟹血淋巴免疫功能的初步研究. 水产科学, 27(4): 163—165
- 沈锦玉, 刘 问, 曹 铮等, 2004. 免疫增强剂对中华绒螯蟹免疫功能的影响. 浙江农业学报, 16(1): 25—29
- 陆宏达, 刘 凯, 张明辉, 2007. 中华绒螯蟹血淋巴中酚氧化酶的部分生化特性. 上海水产大学学报, 16(3): 236—242
- 陈昌福, 陈 萱, 陈超然等, 2003. 水产甲壳动物的免疫防御机能及其免疫预防研究进展. 华中农业大学学报, 22(2): 197—203
- 周 进, 宋晓玲, 王秀华等, 2004. A3 肽聚糖对牙鲆不同组织中超氧化物歧化酶及磷酸酶活力的影响. 中国水产科学, 11(4): 296—302
- 周永灿, 张 本, 陈雪芬, 2002. 嗜麦芽假单胞菌脂多糖的制备及其在卵形鲳中的免疫效应. 水产学报, 26(2): 143—147
- 徐 镇, 姚 鹏, 陈昌福等, 2005. 免疫多糖(酵母细胞壁)中华绒螯蟹抗病力的增强效果. 华中农业大学学报, 24(4): 383—386
- 徐海圣, 徐步进, 2001. 甲壳动物细胞及体液免疫机理的研究进展. 大连水产学院学报, 16(1): 49—56
- Boman H G, 1974. Characteristics of an inducible cell-free anti-bacterial reaction to hemolymph of *Samca cynchiapupae*. *Insect Immune*, 10: 136—145
- Brankica D, Stanko S, Sven M J *et al*, 2008. Modulation of splenic immune responses to bacterial lipopolysaccharide in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed lentinan, a beta-glucan from mushroom *Lentinula edodes*. *Fish and Shellfish Immunology*, 10: 1—36
- David C D, Francisco M V, Constance S C, 2001. Enzymes from extremophiles. *Current Opinion in Chemical Biology*, 5: 144—151
- Eidhin D N, Mouton C, 1993. A rapid method for preparation of rough and smooth lipopolysaccharide from *Bacteroides*, *Porphyrromonas* and *Prevotella*. *FEMS Microbiol Lett*, 110(2): 133—134
- Fujiwara S, 2002. Extremophiles: Developments of their special functions and potential resources. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 94(6): 518—525
- Giudice A L, Michaud L, Mangano S *et al*, 2008. Antimicrobial potential of marine psychrotrophic bacteria isolated from Antarctic sponges. *Department of Animal Biology and Genetics*, 7: S51
- Hultmark D, 1980. Insect immunity: purification and properties of three inducible bactericidal proteins from hemolymph of immunized pupae of *Hyalophora cecropia*. *Europe Journal Biochemistry*, 106: 7—16
- Joris M, An V, Margo C C *et al*, 2001. Characterization of facultative oligotrophic bacteria from polar seas by analysis of their fatty acids and 16S rDNA sequences. *Applied Microbiology*, 24: 98—107
- Paige A, George K I, Julian C T, 2000. Physiological and immunological effects of adjuvanted *Aeromonas salmonicida* vaccines on juvenile rainbow trout. *Journal of Aquatic Animal Health*, 12: 157—164
- Paulsen S M, Engstad R E, Robertsen B, 2001. Enhanced lysozyme production in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) macrophages treated with yeast β -glucan and bacterial lipopolysaccharide. *Fish and Shellfish Immunology*, 11: 23—37
- Söderhäll K, Cerenius L, 1998. Role of the prophenoloxidase-activating system in invertebrate immunity. *Current Opinion in Immunology*, 10(1): 23—28
- Söderhäll K, Lee S Y, 2002. Early events in crustacean innate immunity. *Fish and Shellfish Immunology*, 12: 421—437
- Smith V J, Brown J H, Hauton C, 2003. Immunostimulation in crustaceans: does it really protect against infection? *Fish and Shellfish Immunology*, 15(1): 71—90
- Swain P, Nayak S K, Nanda P K *et al*, 2008. Biological effects of bacterial lipopolysaccharide (endotoxin) in fish. *Fish & Shellfish Immunology*, 25: 191—201
- Trappen S V, Tan T L, Yang J F *et al*, 2004. *Alteromonas stellipolaris* sp. nov., a novel, budding, prosthecate bacterium from Antarctic seas, and emended description of the genus *Alteromonas*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 54: 1157—1163

1) 王雪良, 2008. 酵母 β -葡聚糖对中华绒螯蟹免疫功能的影响. 苏州: 苏州大学硕士学位论文, 23—24

THE EFFECTS OF LIPOPOLYSACCHARIDES FROM TWO STRAINS OF OLIGOTROPHIC BACTERIA FROM ANTARCTIC OCEAN *ALTEROMONAS STELLIPOLARIS* ON NON-SPECIFIC IMMUNITY OF THE SWIMMING CRAB *PORTUNUS TRITUBERCULATUS*

YANG Ji-Fang^{1, 2, 3}, GUO Lu-Yun^{1, 2, 3}, CHEN Fu-Sheng¹, WANG Hai-Li^{2, 3}

(1. College of Foods Science & Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan, 430070; 2. Municipal Key Laboratory of Microorganism and Environmental Engineering, Ningbo, 315100; 3. Faculty of Biological & Environmental Science of Zhejiang Wanli University, Ningbo, 315100)

Abstract The indices of non-specific immunity were measured in 3, 6, 9, 12 days after *Portunus trituberculatus* was treated with lipopolysaccharides (LPS) extracted from two Antarctic ultramicro-bacteria *Alteromonas stellipolaris*, AT52 and AT82. The results showed those LPS were able to improve the activities of anti-bacteria, lysozyme (LSZ), phenoloxidase (PO), superoxide dismutase (SOD), and peroxidase (POD) significantly ($P < 0.05$). A variety of enzyme activities reached maximum levels at different days, and AT82 LPS injection group was found better than those of AT52 LPS injection group. Our studies suggested LPS of Antarctic ultramicro-bacteria is a desirable potential immunologic stimulant for *P. trituberculatus* to fight for bacterial diseases. Future studies are needed to understand the mechanism of the immunity response and the best dosage for these LPS.

Key words Antarctic seawater oligotrophy bacterium, Lipopolysaccharide, *Portunus trituberculatus*, Non-specific immunity