

中华鳖对 T3 菌苗抗原的免疫应答*

杨先乐

(上海水产大学农业部水产增殖生态、生理重点开放实验室, 上海 200090)

周剑光 艾晓辉 柯福恩

(中国水产科学研究院长江水产研究所, 湖北荆州 434000)

摘要 通过 T3 菌苗免疫中华鳖后的血清间接凝集抗体效价 (IAT) 与免疫保护率 (PRP) 的变化探讨了中华鳖的免疫应答规律。中华鳖对 T3 菌苗能产生较强的应答反应, 免疫的二龄鳖 PRP 可达 82.6 ± 15.2 (19)%, IAT 达 $1\ 978.1 \pm 716.4$ (19)。它对 T3 菌苗的免疫效应期为 3 天, 第 20 天时免疫应答处于高峰, IAT 与 PRP 分别为 $1\ 768.0 \pm 447.6$ (4) 与 91.7 ± 14.4 (4)%, 持续 10 天左右开始下降, 到第 3 个月左右基本上回复到免疫开始时水平。结论为: 中华鳖的免疫应答反应基本介于鱼类与鸟类之间, 但较偏向于鸟类。

关键词 中华鳖 T3 菌苗 免疫应答

中华鳖 (*Trionyx sinensis*) 是水栖性爬行动物。由于它具有较高的营养价值和较大的经济效益, 其人工养殖普遍受到人们的重视。近年来, 随着养殖面积和养殖强度的日益增大, 其疾病也日趋严重。因为药物对某些鳖的疾病防治的局限性 (杨先乐等, 1995a; 张奇亚等, 1996), 很多学者认为, 应用疫苗进行免疫防治是一条有效地控制鳖病发生的途径 (杨巨, 1990; 杨先乐等, 1995b)。

探讨免疫应答的规律, 是指示对水产养殖动物最佳免疫方案的一个手段 (Ross *et al.*, 1965; Dorson, 1984), 然而以往关于这方面的研究, 大部分均集中于鱼类 (Song *et al.*, 1965; Anderson, 1974; Tatner *et al.*, 1983; Dixon *et al.*, 1983; Kenji *et al.*, 1985; 见奈美, 1985; 杨先乐等, 1993; 1997), 对于爬行动物, 尤其是鳖类国内外均鲜有报道。为了给中华鳖的免疫防治指示方向, 我们从 1995 年开始用 T3 菌苗作为抗原对中华鳖的免疫应答规律进行研究, 本文报道了这一研究结果。

1 材料和方法

1.1 T3 菌苗抗原的制备

扩大培养的中华鳖红底板致病菌株 T3 (本实验室分离, 经鉴定为 *Aeromonas hydrophila*) 用 0.4% 的福尔马林 28℃ 灭活 48 hr, 无菌生理盐水洗涤 3

次, 安全性检验后, 按 60×10^8 cfu/ml 浓度分装, 于 4℃ 冰箱保存备用。

1.2 中华鳖的免疫及其免疫应答水平的测定

试验鳖来源于长江水产研究所养鳖场和上海市前卫农场中华鳖养殖场, 体重 30~100 g。驯养 3~5 天后用 T3 菌苗以后腿肌肉注射的方式接种, 每只 0.3~0.4 ml。免疫期间水温为 28 ± 2 ℃。免疫若干天后, 采取断头方式对若干只鳖取血, 分离到的血清合并后用红细胞间接凝集试验 (杨先乐等, 1999) 测定其血清间接凝集抗体效价 (能使致敏红细胞产生 2+ 以上凝集的最高血清稀释度的倒数, 以下简称 IAT) 和用 8×10^8 cfu/ml 的 T3 致病株攻击, 测定其免疫保护率 [免疫保护率 (%) = $(1 - \text{免疫组死亡率} / \text{对照组死亡率}) \times 100$, 以下简称 PRP]。为了排除各次试验因操作和条件的不同可能造成的系统差异, 对同一项目每次均以同一血清作为参照, 以此同化不同次试验对 IAT 检测的结果, 以便统计分析。

2 结果

2.1 中华鳖对 T3 菌苗免疫应答的水平

从 1995 年到 1998 年我们先后用 T3 菌苗对 6 组一龄鳖与 19 组二龄鳖进行了免疫, 30 天左右后

1999-03-23 收稿, 1999-09-21 修回

* 国家自然科学基金资助项目 (No. 39570565) 和农业部“九五”重点项目 (渔 95-A-96-03-04) 资助

第一作者简介 杨先乐, 男, 51 岁, 研究员。研究方向: 水产动物病害。E-mail: xlyang@shfu.edu.cn

表 1 中华鳖对 T3 菌苗免疫应答的水平

Table 1 The immune response of Soft-shelled turtle to bacterin T3

免疫对象 The age of turtle	各组试验鳖只数 Numbers of each group		免疫 保护率 PRP ^[1] (%)	血清间接凝集抗体效价 IAT ^[2]		
	试验组 (Treatment)	对照组 (Control)		试验组 (Treatment)	对照组 (Control)	二者比较 (<i>t</i> 检验) [Treatment vs control (<i>t</i> test)]
一龄鳖 (1 year old)	6 5 6 , 10 8 8 ,	7 4 6 , 13 9 8	61.8 ± 11.2 (6)*	403.3 ± 165.4 (6)	11.4 ± 6.8 (6)	<i>P</i> < 0.01**
二龄鳖 (2 years old)	7 7 , 9 5 , 5 12 , 7 8 , 10 6 , 5 5 , 8 10 , 7 5 , 12 6 , 6 6 8 6 6 8 8	7 7 , 9 5 , 5 12 , 7 , 8 2 , 6 6 , 5 5 , 12 6 , 8 8 7 6 , 15 15	82.6 ± 15.2 (9)	1978.1 ± 716.4 (19)	12.6 ± 4.5 (19)	<i>P</i> < 0.01**
二龄鳖与一龄鳖比较 (1 year old vs 2 years old)			<i>P</i> < 0.01**	<i>P</i> < 0.01**	0.7 >	<i>P</i> > 0.6

[1]PRP : Percent relative protection [2]IAT : Indirect agglutination titer

* 平均数 ± 标准差 (试验次数) Mean ± SD (Numbers of test)]

** 差异显著 (Very significant difference)

测定它们对 T3 菌苗的免疫应答水平。结果表明, 无论一龄鳖还是二龄鳖, 都能对 T3 菌苗产生较强的应答, IAT 非常显著地高于对照组; 但一龄鳖比二龄鳖的免疫应答水平要低, 不管是从 PRP 还是 IAT 分析, 二者均有非常显著的差异 (表 1)。

2.2 中华鳖对 T3 菌苗免疫应答的规律

2.2.1 免疫应答的总体情况 1996 年和 1997 年, 我们用 T3 菌苗分别对中华鳖进行 3 次免疫试验 (每组 20 ~ 25 只), 从第 0 天开始, 每隔 10 天采血测定它们的 IAT。3 次试验的结果均表明, 前 20

天, IAT 急剧上升, 由起始时的 8.3 ± 1.8 (3) (三次试验统计结果, 以下同), 上升到第 20 天时的 2 232.9 ± 757.3 (3), 此后缓慢下降, 第 30 天时为 1 678.1 ± 429.5 (3), 第 40 天与第 10 天水平基本相仿, 第 50 天下降到 275.4 ± 129.8 (2), 但仍非常显著高于开始时与对照组的水平 (*t* 检验, *P* < 0.01) (图 1)。1996 年 8 月 28 日 ~ 10 月 17 日对用 T3 菌苗免疫后的中华鳖 PRP 的测定结果也表明, 中华鳖在免疫后 10 ~ 30 天内可产生较强的免疫应答 (图 2)。

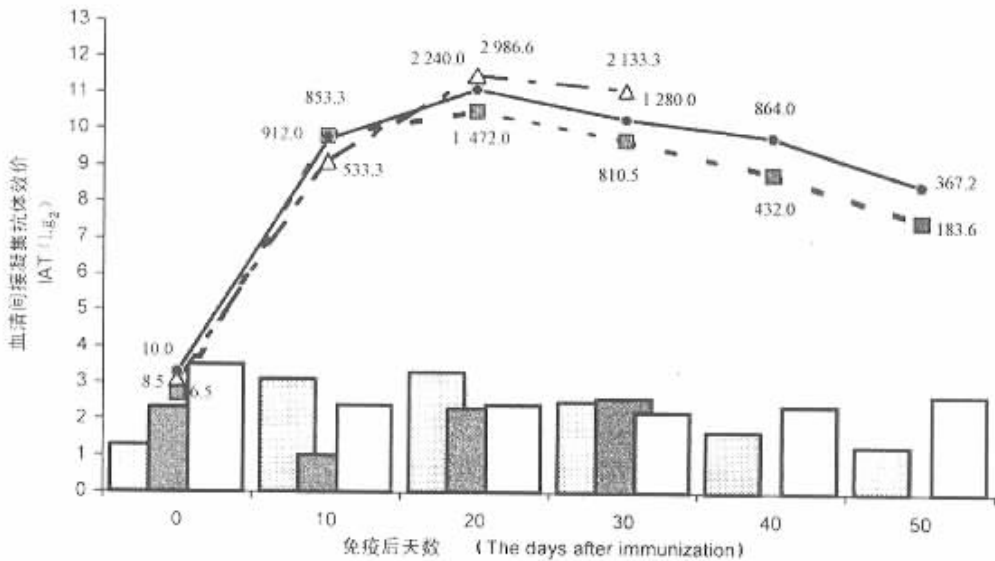


图 1 T3 菌苗免疫后的中华鳖血清间接凝集抗体效价变化的规律

Fig.1 The variations of the indirect agglutination titer of Soft-shelled turtle immunized with bacterin T3

▨ : 9604 对照组 (9604 control) ▨ : 9703 对照组 (9703 control) □ : 9704 对照组 (9704 control)
 —□— : 9604 免疫组 (9604 treatment) —△— : 9703 免疫组 (9703 treatment) —●— : 9704 免疫组 (9704 treatment)

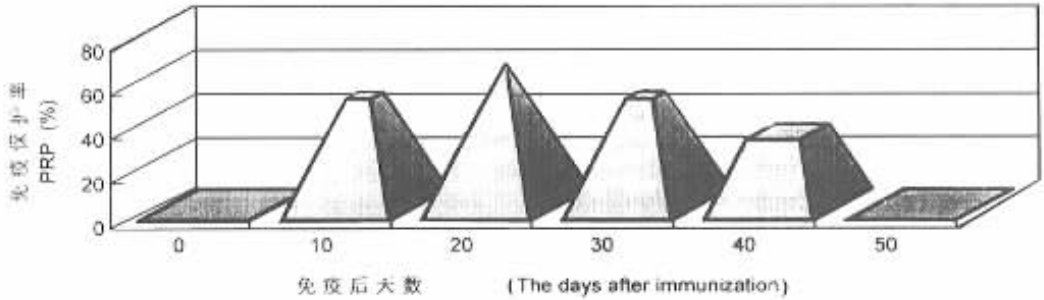


图 2 T3 菌苗免疫后中华鳖免疫保护率的变化

Fig.2 The variation of percent relative protection (PRP) of Soft-shelled turtle immunized with bacterin T3

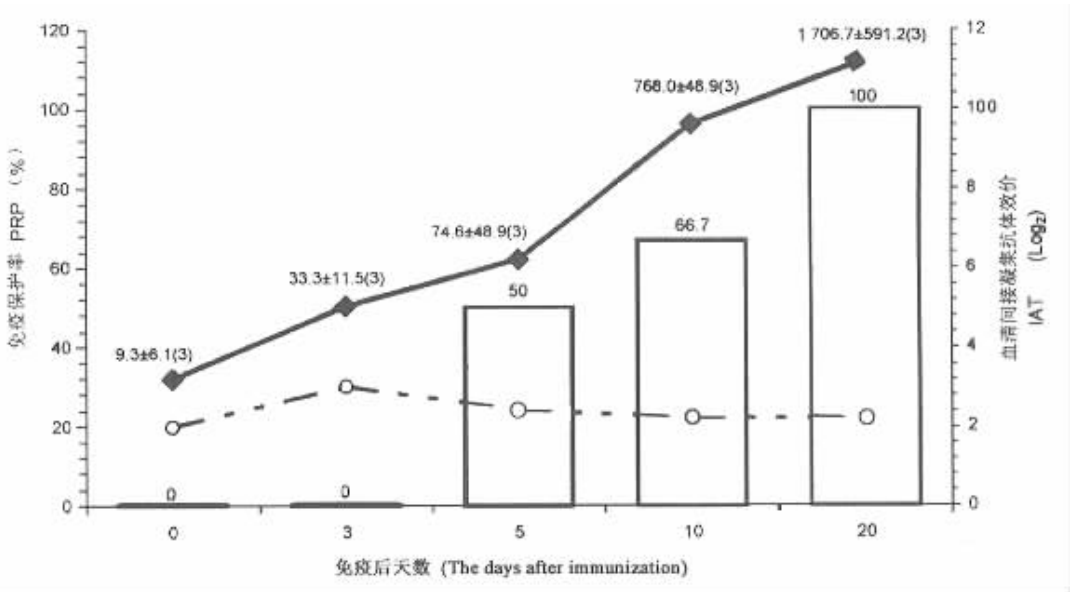


图 3 中华鳖对 T3 菌苗免疫效应期

Fig.3 The effective phase of Soft-shelled turtle immunized with bacterin T3

■ : 免疫保护率 (PRP)

◆ : 免疫组血清间接凝集抗体效价 (IAT of the immune)

○ : 对照组血清间接凝集抗体效价 (IAT of control)

2.2.2 免疫应答效应期 1998 年用 T3 菌苗对 80 只中华鳖免疫,以测定免疫效应期,试验结果如图 3 所示。T3 菌苗免疫后的第 3 天,免疫保护率虽为 0,但 IAT 与初始状态和对照相比,已有比较显著的差异 ($0.1 > P > 0.05$),以后 IAT 迅速上升,第 5、10 天均非常显著地高于初始状态 ($P < 0.01$),PRP 也由 0% 上升到 50% 与 66.7%,第 20 天 IAT 与 PRP 均达较高水平。

2.2.3 免疫应答高峰期 表 2 是 1995 年~1998 年对免疫后的中华鳖第 5、10、20、25、30、35、40 和 50 天的 IAT 与 PRP 检测后的统计结果。试验结果表明,免疫后第 20 天,中华鳖的免疫应答最强,无论是 IAT 还是 PRP 均达较高水平,和第 10 天时的 IAT 与 PRP 差异显著;第 25 天 IAT 与 PRP 均有

下降,但与高峰的第 20 天时相比,无显著差异 ($0.2 > P > 0.1$)。第 30 天及其以后,IAT 迅速下降,均与第 20 天差异显著或极为显著;PRP 也显著下降,第 35 天时只有 $61.1 \pm 18.4 (6)\%$,与第 20 天的水平差异显著 ($0.02 > P > 0.01$)。

2.2.4 免疫应答的持久性 表 3 的结果表明了 1997 年和 1998 年两组免疫试验的中华鳖 IAT 随时间的变化情况。免疫第 2 个月后,中华鳖的 IAT 比第 1 个月显著下降,与第 1 个月相比有非常显著的差异 (1997 年, $P < 0.01$) 和比较显著的差异 (1998 年, $0.1 > P > 0.05$)。第 3 个月后 IAT 基本下降到对照组水平,与对照组没有显著差异 (P 均大于 0.1 以上)。

表 2 中华鳖对 T3 菌苗免疫应答的高峰期

Table 2 The peak stage of immune response of Soft-shelled turtle immunized with bacterin T3

免疫后天数 The days after immunization	每组试验鳖只数 (试验/对照) Turtle numbers of each group (Treatment / Control)	血清间接凝集抗体效价 IAT		免疫保护率 PRP
		试验组 (Treatment)	对照组 (Control)	
0	8,10 / 8,10	7.5 ± 3.5	8.0 ± 5.6	0
5	15,15 / 10,10	160.0 ± 0	8.0 ± 5.6	50.0 ± 0
10	80,15,30 / 80,9,10	718.2 ± 165.7	4.0 ± 1.8	61.5 ± 10.0
20	5,12,8,8 / 5,12,8,8	1768.0 ± 447.6	17.8 ± 1.8	91.7 ± 14.4
25	7,7,6 / 7,7,6	1196.3 ± 351.3	8.4 ± 2.2	75.6 ± 17.5
30	6,6,6 / 8,8,7	705.3 ± 238.2	8.0 ± 2.4	72.2 ± 7.8
35	6,7,10,6,8,6 / 6,6,10,7,9,6	404.8 ± 230.5	8.4 ± 3.7	61.1 ± 18.4
40	8,9 / 15,11	276.0 ± 84.0	3.8 ± 1.8	54.2 ± 20.8
50	8,9 / 8,9	124.7 ± 71.2	5.0 ± 0.4	25.0 ± 35.3
t 检验 (均与第 20 天时比较) t-test (Each group vs the group 20 th day)	10		0.05 > P > 0.02*	0.05 > P > 0.02*
	25		0.2 > P > 0.1	0.4 > P > 0.3
	30		0.05 > P > 0.02*	0.2 > P > 0.1
	35		P < 0.01**	0.02 > P > 0.01*
	40		0.02 > P > 0.01*	0.1 > P > 0.05
	50		0.02 > P > 0.01*	0.1 > P > 0.05

* 差异显著 (Significant difference) ** 差异极显著 (Very significant difference)

表 3 中华鳖对 T3 菌苗免疫应答的持久性

Table 3 The continuance of immune response of Soft-shelled turtle with bacterin T3

免疫后月数 Months after immunization	血清间接凝集抗体效价 IAT					
	1997 年试验 (In 1997)			1998 年试验 (In 1998)		
	试验组 (Treatment)	对照组 (Control)	t 检验 (t test)	试验组 (Treatment)	对照组 (Control)	t 检验 (t-test)
0	10.0 ± 6.0(2)	11.3 ± 8.1(3)	0.7 > P > 0.6	5 ± 2(4)	4.0 ± 0(3)	0.7 > P > 0.6
1	1280.0 ± 0(3)	5.3 ± 2.3(3)	P < 0.01**	1536.0 ± 886.8(3)	6.0 ± 3.5(3)	P < 0.01**
2	367.2 ± 170.1(4)	4.7 ± 3.1(3)	P < 0.01**	106.7 ± 37.0(3)	4.0 ± 0(3)	P < 0.01**
3	16.8 ± 17.9(3)	5.3 ± 2.3(3)	0.5 > P > 0.4	18.7 ± 12.2(3)	6.0 ± 3.5(3)	0.3 > P > 0.2
4				9.1 ± 3.1(3)	4.7 ± 3.1(3)	0.3 > P > 0.2
5				14.7 ± 6.1(3)	4.0 ± 0(3)	0.2 > P > 0.1
试验组间 (均和第 1 个月比较) t 检验 [t-test (Each group vs the group of 1 st month)]	第 2 个月 (The 2 nd month)		P < 0.01**		0.1 > P > 0.05	
	第 3 个月 (The 3 rd month)		P < 0.01**		P < 0.01**	
	第 4 个月 (The 4 th month)				P < 0.01**	
	第 5 个月 (The 5 th month)				P < 0.01**	
						P < 0.01**

3 讨 论

中华鳖属爬行动物,在进化树上介于两栖类与鸟类之间,但因它是水栖、变温型动物,故在生理、生态习性上较多接近于鱼类。较多的研究证明,鱼类等水生动物跟脊椎动物一样,具有较强的免疫应答反应 (Song *et al.*, 1981; Tatner *et al.*, 1983; Bullock *et al.*, 1984; 杨先乐等, 1993), 本试验也进一步证实了这一点。用 T3 菌苗免疫后的中华鳖,能对其产生较强的免疫应答, IAT 与 PRP 均具较高水平。由此提示,中华鳖具有较发达的免疫系统,采用疫(菌)苗预防中华鳖的重大传染性疾病是一条可行的途径。另一方面,鳖的年龄对其免疫应答反应也有较大的影响。一般来说,1 龄鳖处于免疫系统的发育与成熟阶段,而 2 龄鳖免疫系统已趋于成熟,因此 2 龄鳖比 1 龄鳖对外界免疫原要呈现出较强的免疫应答反应。

免疫效应期是外来抗原激发机体产生机制的过程,有了这个过程,鱼类等水生动物就能产生正常的免疫应答 (Anderson, 1974)。免疫效应期的确定,能正确地指示疫苗合理、有效的使用。研究表明,各种鱼类的免疫效应期不同。Anderson (1974) 认为,鲢鱼要在抗原刺激 2~3 周后,血清中才出现特异性抗体,而杨先乐等 (1993) 发现用 CFRV 疫苗免疫后的草鱼,第 5 天血清中即会有中和抗体出现,因此他们认为草鱼的免疫效应期为 5 天。本研究表明,中华鳖免疫后第 3 天,血清中即有凝集抗体出现,虽其效价较低,但却高于初始状态与对照;第 5 天后 IAT 与 PRP 急剧上升。由此我们认为,免疫后第 3 天虽然中华鳖的免疫应答反应还较低,但其抗原已激发机体产生了效应,中华鳖的应答已经开始,因此它对 T3 菌苗免疫效应期为 3 天。一般来说,鸟类的免疫效应期相应较短,而鱼类的效应期较长,中华鳖则介于二者之间且较偏向于鸟类。

从本研究还可看出,免疫后第 20 天,中华鳖

的免疫应答水平达到峰值,但维持时间较短, IAT 与 PRP 在第 30 天后有明显的下降,与高峰出现时有显著和非常显著的差异,这说明中华鳖抗体形成较快,高峰期较短(仅 10 天左右),这一点与鱼类有所区别。一般来说,鱼类抗体形成期较长,达到峰值后还维持较长一段时间,以后才缓慢下降 (Maisser *et al.*, 1976; Dunier, 1983)。Dixon 等 (1983) 用灭活的传染性造血器官坏死症病毒疫苗免疫硬头鲮后,中和抗体第 8 周才达到高峰, Thuvander 等 (1987) 发现弧菌疫苗浸泡免疫的硬头鲮血清抗体达到峰值的时间在第 17 周。而哺乳动物一般 5~7 天抗体产生(对细菌抗原),此后抗体急剧上升,15 天左右达到恒定期(高峰期);经新城疫病毒感染的鸡,在 14~15 天后,抗体效价可达到高峰(杨本升等, 1995)。从抗体形成的速度和达到峰值的时间看,中华鳖似乎也较接近于鸟类与哺乳类。

中华鳖免疫应答持续时间也与鱼类有较大区别。根据本研究结果,我们认为中华鳖对 T3 菌苗的免疫应答只能维持到第 2 个月,第 3 个月后基本消失,而鱼类则可持续较长时间。河鲮 (*Salmo fario*) 注射嗜水气单胞菌后,凝集抗体可维持到第 10 个月 (Krantz *et al.*, 1963); 用弧菌疫苗免疫硬头鲮,46 周后仍可从血清检测到相应的抗体 (Thuvander *et al.*, 1987); 用疖疮病疫苗口服免疫硬头鲮,免疫持续期可达 408 天 (Ross *et al.*, 1965); 草鱼对 CFRV 疫苗的免疫持续期在 13 个月以上 (杨先乐等, 1993)。出现这种差异的原因,除了免疫原的性质、接种途径以及环境因素以外,免疫对象的遗传性也是一个重要原因。比较免疫学研究发现,从鱼类到哺乳类,相应高等的动物其免疫持续期较短。从进化上说鳖比鱼类相应高等,根据这一规律,它的免疫持续期短于鱼类似乎在情理之中。这一结果提示:要使中华鳖获得较为长久的免疫保护能力,适时进行免疫加强是一个重要方面,关于这一研究结果,我们将另文报告。

参 考 文 献 (References)

- Anderson, D. P. 1974 *Fish Immunology*. New York: T. F. H. Publications Inc. Ltd.
- Bullock, G. P. and D. P. Anderson 1984 Immunization against *Yersinia ruckeri* cause of enteric redmouth disease. In: De Kinkelin, P. ed. Symposium on Fish Vaccination. Paris: O.I.E. Press, 151~166.
- Dixon, P. F. and B. J. Hill 1983 Inactivation of infectious pancreatic necrosis virus for vaccine use. *J. Fish Dis.* 6: 399~409.
- Dorson, M. 1984 Applied immunology of fish. In: De Kinkelin, P. ed. Symposium on Fish Vaccination. Paris: O.I.E. Press, 39~74.
- Dunier, M. 1983 La production d'anticorps sériques chez la truite Arc-en-Ciel (*Salmo gairdneri* Richardson): influence du rappel et des adjuvants Thèse présentée à l'Institut National Agronomique Paris-Grignon.

- Kenji, K. and K. Riichi 1985 Field testing of oral *Vibrio anguillarum* bacterin in pond-cultured Ayu. *Fish Pathology* **20**(2/3):413~419.
- Krantz, G. E., J. M. Reddecliff and C. E. Hiest 1963 Development of antibodies against *Aeromonas salmonicida* in trout. *J. Immunol.* **91**:757~760.
- Maisse, G. and M. Dorson 1976 Production d'agglutinines anti-*Aeromonas salmonicida* par la Truite Arc-en-Ciel Influence de la température, d'un adjuvant et d'un immunodépresseur. *Annales de Recherches Vétérinaire* **7**(4):307~313.
- Mi, Nami 1985 Study on vibriosis vaccine of ayu fish, *Plecoglossus altivelis*. *Aquaculture* **2**:53~56. [见奈美 1985 アエのヒブリオ病ワクチンについて. *养殖* **2**:53~56.]
- Ross, A. J. and G. W. Klontz 1965 Oral immunization of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) against the etiological agent of "redmouth disease". *J. Fish Res. Board Can.* **22**(3):713~719.
- Song, Y. J. and G. W. Klontz 1965 Oral immunization of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) against the etiologic agent of redmouth disease. *J. Fish. Res. Board Can.* **22**(3):713~719.
- Song, Y. L. and G. H. Kou 1981 Immune response of eels (*Anguilla japonica*) against *Aeromonas hydrophila* and *Edwardsiella anguillimortiferum* (*E. Tarda*) infection. *Proc. Repub. of China. U. S. Coop. Sci. Seminar on Fish Dis. Nat. Sci. Conn. Series* **3**:107~115.
- Tatner, M. F. and M. T. Horne 1983 Susceptibility and immunity to *Vibrio anguillarum* in post-hatching Rainbow trout fry, *Salmo gairdneri* Richardson 1836. *Developmental and Comparative Immunology* **7**(3):462~465.
- Thuvander, A., T. Hongslo, E. Jansson, B. Sundquist 1987 Duration of protective immunity and antibody titres measured by ELISA after vaccination of rainbow trout *Salmo gairdneri* Richardson, against vibriosis. *J. Fish Dis.* **10**:479~486.
- Yang, B. S., Y. B. Liu., S. J. Gou and Y. X. Liao 1999 Animal Microbiology. Changchun: Jilin Science Press 256, 282. [杨本升, 刘玉斌, 苟士金, 廖延雄 1995 动物微生物学. 长春:吉林科学技术出版社 256, 282.]
- Yang, J. 1990 Inactivated bacterin of *Aeromonas hydrophila* of soft-shelled turtle, *Trionyx sinensis*. *Fisheries Science & Technology Information* **4**:111~113. [杨巨 1990 甲鱼嗜水气单胞菌灭活菌苗的研究. *水产科技情报* **4**:111~113.]
- Yang, X. L. and L. B. Zeng 1993 The immune response of grass carp immunized with vaccine CFRV. *Journal of Fisheries of China* **17**(4):312~318. [杨先乐, 曾令兵 1993 草鱼对 CFRV 疫苗免疫应答的研究. *水产学报* **17**(4):312~318.]
- Yang, X. L., L. He and F. E. Ke 1995a Status and prospect for researching diseases of soft-shelled turtle, *Trionyx sinensis*. *Journal of Fishery science of China* **2**(4):78~85. [杨先乐, 贺路, 柯福恩 1995a 鳖病研究的现状及其展望. *中国水产科学* **2**(4):78~85.]
- Yang, X. L., F. E. Ke and C. G. Ye 1995b The Turtle Diseases and Their Prevention and Control. Beijing: Agriculture Science & Technology Press, 97~101. [杨先乐, 柯福恩, 叶重光 1995b 鳖病及其防治. 北京:农业科学技术出版社 97~101.]
- Yang, X. L. and W. G. Zuo 1997 Relationship between water temperature and the immune response of grass carp, *Ctenopharyngodon idellus* C. et V. *Acta Zool. Sin.* **43**(1):42~48. [杨先乐, 左文功 1997 水温与草鱼免疫应答关系的研究. *动物学报* **43**(1):42~48.]
- Zhang, Q. Y., Z. Q. Li, Y. L. Jiang, S. C. Liang and J. F. Gui 1996 The virus pathogen of soft-shelled turtle, *Trionyx sinensis*. *Chinese Science Bulletin* **41**(21):1987~1990. [张奇亚, 李正秋, 江育林, 梁绍昌, 桂建芳 1996 中华鳖病毒病原的研究. *科学通报* **41**(21):1987~1990.]

外 文 摘 要(Abstract)

**IMMUNE RESPONSE OF SOFT-SHELLED
TURTLE (*TRIONYX SINENSIS*) TO BACTERIN T3***

YANG Xian-Le

(Key Lab. of Ecology and Physiology in Aquaculture , Ministry of Agriculture , Shanghai Fisheries University , Shanghai 200090 , China)

ZHOU Jian-Guang AI Xiao-Fei KE Fu-En

(Yangtze River Fisheries Institute , Jingzhou 434000 , Hubei , China)

The immune response in soft-shelled turtle (*Trionyx sinensis*) immunized with bacterin T3 , was determined with indirect agglutination titer (IAT) and percent relative protection (PRP). In the vaccinated turtle , the strong immune response to bacterin T3 was produced. Six groups of 1-year-old turtles and 19 groups of 2-years-old turtles were respectively vaccinated by bacterin T3. At the 30th day , the PRP and IAT of the 1-year-old turtles were to $61.8 \pm 11.2(6)\%$ and $403.3 \pm 165.4(6)$, yet the corresponding values of 2-years-old turtles were $82.6 \pm 15.2(19)\%$ and $1978.1 \pm 716.4(19)$ respectively. According to the test , the PRP and IAT of 2-years-old turtles were higher than those of 1-year-old turtles. The study demonstrated that the effective phase of immune response to bacterin T3 was 3 days. At the 20th day , the IAT value is up to $1768.0 \pm 447.6(4)$. Which maintained for about 10 days and decreased to the initial level on the 60th day. The results proved that the immunologic memory of the turtles was strong. The secondary enhanced immunization began at the 30th day of the primary immunization. The IAT increased quickly and was $5760.0 \pm 2790.0(4)$ at the 16th day of the secondary immunization , which reached the second peak value that was nine times as high as the primary peak value. The IAT decreased to $4266.7 \pm 1478.0(3)$ at the 30th day , $2986.5 \pm 1955.3(3)$ at the 60th day , and $1280.0 \pm 0(2)$ at the 70th day. The result still has no significant difference compared to the peak value of the secondary immunization ($0.2 < P < 0.3$) , yet having significantly higher than that of immunization ($0.01 < P < 0.02$). From these facts , we can concluded that the decreasing speed of antibody of the secondary immunization was clearly slower than increasing speed. The result suggests that the character of immune response of Soft-shelled turtle lies between fish and bird , but it is more like the latter.

Key words Soft-shelled turtle (*Trionyx sinensis*) , Bacterin T3 , Immune response

* The work was supported by the National Natural Science Foundation of China(No.39570565)