

# 汞胁迫对拟穴青蟹(*Scylla paramamosain*) 主要消化和免疫因子的影响\*

李文静<sup>1,2</sup> 陈强<sup>1,2</sup> 杨欢<sup>1</sup> 黎中宝<sup>1,2</sup>  
陈太容<sup>1</sup> 吴传奇<sup>1</sup>

(1. 集美大学水产学院 厦门 361021; 2. 福建省海洋渔业资源与生态环境重点实验室 厦门 361021)

**摘要** 采用实验生态学方法,开展了汞胁迫下拟穴青蟹(*Scylla paramamosain*)的消化和免疫因子变动的研究。在实验室条件下,测定了 0.00、0.005、0.01、0.02、0.04、0.08mg/L 浓度  $Hg^{2+}$  在 1d、3d、5d、7d、9d 胁迫时间下的消化和免疫因子变化。结果表明,汞胁迫下拟穴青蟹 AMS 活性快速升高,但激活效应随胁迫时间延长而逐渐下降,后期表现为抑制效应。汞胁迫能激发 Pepsin 活性,短期内 Pepsin 活性和胁迫浓度、胁迫时间呈正相关;长期高浓度胁迫(0.04、0.08mg/L),则激发效应减弱。汞胁迫对 LPS 活性的影响主要表现为抑制作用。免疫因子的研究表明,汞胁迫对 AKP 有激发作用,可迅速刺激机体 AKP 活力上升。低浓度汞胁迫对 AKP 活性提升最显著(0.005、0.01、0.02mg/L),高浓度组 AKP 活性先升后降。汞胁迫对 ACP 活性有激发作用,且存在显著的时间效应和浓度效应。汞胁迫下 SOD 活性短期内即显著升高,且 SOD 活力随胁迫时间延长而持续升高。汞胁迫对 LZM 活性有激活作用,且激活效应存在时间效应和浓度效应。汞胁迫对 PO 活力快速产生抑制作用,抑制作用存在时间效应而无显著的浓度效应。汞胁迫对拟穴青蟹消化和免疫因子能产生胁迫效应,对 Pepsin、AMS、AKP、ACP、SOD、LZM 表现为激发,而对 LPS、PO 表现为抑制。

**关键词** 汞;拟穴青蟹;消化因子;免疫因子

**中图分类号** S968.25

汞、铬、镉、铅并列为四大污染重金属,汞(Hg)是我国近海环境中常见的高毒性污染物,在水体和底泥沉积物中常见,能够被水生动物所蓄积并引发一系列损害效应(Choi *et al.*, 2006; 王亚炜等, 2008; Al-Weher, 2008)。重金属污染物在海洋中的生物过程主要是海洋生物通过吸附、吸收或摄食而将重金属富集在体内外,并经由食物链而逐级放大,致使高营养阶的生物体内富集着较高浓度的重金属,或危害生物本身,或由于人类取食而损害人体健康(Lygren *et al.*, 1999; 翁朝红等, 2001)。

拟穴青蟹(*Scylla paramamosain* Estampador 1949)是分布在我国青蟹属(*Scylla*)优势种和东南沿海重

要捕捞对象。随着人工育苗技术的发展以及健康养殖技术的推广,拟穴青蟹也逐渐成为我国沿海滩涂养殖的主要经济蟹类。拟穴青蟹作为近岸分布的底栖性物种,又以动物性食物为主要食物来源,其生物学和生态学特征决定了拟穴青蟹比游泳动物更易富集重金属并受到毒害作用,从而造成生长障碍、免疫力下降、病害丛生甚至遗传改变。

甲壳动物的免疫防御为非特异性免疫,目前发表的文献也基本是对不同环境因子胁迫下的免疫应激研究,而笔者认为机体对环境的应激是多方面的,重金属胁迫也有可能导致拟穴青蟹的摄食和消化产生应激。鉴于此,本文在探讨拟穴青蟹对重金属的应

\* 福建省科技厅青年创新项目, 2008F3077 号; 福建省教育厅科技项目, JA09158 号; 国家自然科学基金项目, 40376044 号。  
李文静, 博士, 副教授, E-mail: wjlee@jmu.edu.cn

通讯作者: 黎中宝, 博士, 教授, E-mail: lizhongbao@jmu.edu.cn

收稿日期: 2012-09-23, 收修改稿日期: 2012-12-29

激反应时,除了测定若干免疫因子外,也加入几种消化酶的测定,初步探讨重金属对拟穴青蟹免疫和消化能力的影响。通过测定不同浓度背景和不同胁迫时间下汞对拟穴青蟹的免疫酶的影响方式和程度,探讨汞离子污染对拟穴青蟹生长和免疫的影响,以期为拟穴青蟹的健康养殖、天然资源保护等提供参考。

## 1 材料与方 法

### 1.1 实验材料

从福建漳浦沿海收集渔民诱捕的野生拟穴青蟹,选择活力好、附肢健全的个体,经暂养以适应人工环境。实验个体平均壳长(7.16±0.42)cm;平均壳宽(4.98±0.34)cm;平均体质量(73.4±12.65)g。暂养池设置 PVC 管材及覆瓦作为隐蔽物,水深约 30cm,设置置顶式过滤系统,以净化水质及增氧。并视水质情况 1—2d 换水一次。暂投喂牡蛎(*Ostrea*)、花蛤(*Ruditapes variegatus*)、虹光亮樱蛤(*Moerella iridescens*)等天然饵料。暂养周期 10d,实验前停食 1d。暂养用水盐度 16±1,溶氧 6.0mg/L 以上,pH 7.5±0.3,水温(20±2)℃。

### 1.2 实验药物

试剂采用贵州铜仁银湖化工有限公司生产的分析纯氯化汞(HgCl<sub>2</sub>),在实验室配置成 10mg/L 母液,再根据各组浓度设定按比例稀释。

### 1.3 浓度设定

实验浓度区间介于拟穴青蟹 96h 安全浓度和中华人民共和国渔业水质标准规定的 Hg<sup>2+</sup>安全浓度(0.0005mg/L)之间,按等比数列设立浓度区间,共设定 0.005、0.01、0.02、0.04、0.08mg/L 共 5 个浓度组和一个空白对照。

### 1.4 实验条件

实验容器为 0.60m×0.40m×0.40m,体积 96L 的玻璃养殖缸,盛水体积 40L。选择活力好,无残肢个体,随机移入各实验组进行实验。每浓度组设 3 个平行,每缸 10 只蟹,每浓度组 30 只。实验过程中不投喂,持续充气增氧,2d 换水 1 次,实验周期共 9d。养殖用海水经多级过滤,DO (6.8±0.3)mg/L, pH 7.5±0.3,温度(20±2)℃,盐度用纯净水调节至 16±1,设置 PVC 管材及覆瓦作为隐蔽物,每缸加盖防逃。

### 1.5 样品制备

在试验开始后第 1、3、5、7、9 天分别采样,每处理组随机取 3 个个体,活体解剖,摘取胃、肝胰脏分别置于离心管,-80℃冰箱保存待测。以胃组织为材料,分别测定胃蛋白质酶(pepsin)、脂肪酶(LPS)、淀

粉酶(AMS)。以肝胰脏为材料,分别测定碱性磷酸酶(AKP)、酸性磷酸酶(ACP)、超氧化物歧化酶(SOD)、酚氧化酶(PO)、溶菌酶(LZM)。

测定样品时,分别称取 3 份 0.1g 的胃、肝组织,放入玻璃匀浆器内并加上相应体积的组织匀浆介质,检测总超氧化物歧化酶、酸碱性磷酸酶及其蛋白浓度时,制备 10%组织匀浆液,低温离心机 2000r/min 离心 15min;检测溶菌酶时,制备成 5%的组织匀浆,10000r/min 低温离心 15min;其余指标测定均制备 10%的组织匀浆,2500r/min 离心 10min,取出上清液待测。

### 1.6 指标测定

所有测定所用试剂盒均为南京建成生物工程研究所生产。

AMS 活力测定:按照碘—淀粉比色法进行测定,组织中每 mg 蛋白在 37℃与底物作用 30min,水解 10mg 淀粉为 1 个淀粉酶活力单位。

Pepsin 活力测定:用试剂盒测定,酶活力定义为每 mg 组织蛋白 37℃每 min 分解蛋白生成 1μg 氨基酸相当于 1 个酶活力单位。

LPS 活力测定:用试剂盒行测定,组织脂肪酶单位定义为在 37℃条件下,每克组织蛋白在本反应体系中与底物反应 1min,每消耗 1μmol 底物为一个酶活力单位。

ACP 活力测定:试剂盒测定,酶活力定义为每 100mL 血清或每克组织蛋白在 37℃与基质作用 30min 产生 1mg 酚为 1 个活力单位。

ALP 活力测定:用试剂盒测定,酶活力定义为每 100mL 血清或每克组织蛋白在 37℃与基质作用 30min 产生 1mg 酚为 1 个活力单位。

LZM 活力测定:溶菌酶试剂盒中自身对照法进行测定。

SOD 活力测定:试剂盒测定,SOD 酶活性定义为每 mL 反应液中 SOD 抑制率达 50%时所对应的 SOD 量为一个亚硝酸盐单位。

PO 活力测定:以 L-dopa 为底物,参照 Ashida (1971)的方法进行。PO 活力定义为以试验条件下每 min A<sub>490</sub> 增加 0.001 为 1 个酶活单位。

### 1.7 数据处理

实验数据在 Microsoft Excel 2003 进行统计处理,所得数据以平均数(Mean, M)±标准差(Stdeva, SD)表示,采用 SPSS10.0 软件进行统计分析,(P<0.05)表示均数间差异显著。

## 2 实验结果

### 2.1 汞胁迫对拟穴青蟹主要消化酶的影响

#### 2.1.1 汞胁迫对拟穴青蟹胃淀粉酶的影响

汞胁迫下, 拟穴青蟹胃淀粉酶的活性变化见图 1。由图中可见, 对照组和各实验组 AMS 活性随着实验时间延长均呈上升趋势。在实验早期即在 1d、3d 样本中, 实验组 AMS 活性均高于对照组, 且 AMS 活性和浓度呈正相关关系, AMS 活性最高值均出现在 0.08mg/L 浓度组; 在 5d、7d 样本中, 实验组 AMS 活性也高于对照组, 但 AMS 活性和浓度之间没有显著相关, AMS 活性峰值分别出现在 0.005mg/L 和 0.04mg/L 浓度组; 在 9d 样本中, AMS 活性最高值出现在对照组, 各实验组 AMS 活性均低于对照组, 显示此时 AMS 活性受到抑制。说明汞胁迫导致拟穴青蟹 AMS 活性快速出现应激, 导致 AMS 活性升高, 但随着胁迫时间延长, AMS 活性的激活效应逐渐下降, 后期汞胁迫对 AMS 活性表现为抑制。

2.1.2 汞胁迫对拟穴青蟹胃蛋白酶的影响

汞胁迫对拟穴青蟹胃蛋白酶活性的影响见图 2。由图 2 可见, 对照组蛋白酶活性随实验时间延长呈先升后降趋势, 在 5d 达到最高值, 酶活性变化幅度较小。低浓度胁迫(0.005、0.01mg/L)在实验前期(1—5d)对胃蛋白酶活性产生抑制作用, 后期(7—9d)低浓度组胃蛋白酶活性逐渐升高, 高于对照组, 表现为激活作用。高浓度组(0.02、0.04、0.08mg/L)则迅速产生激发作用, 1d 活性即显著高于对照组, 并在 5d、7d 达到峰值, 9d 高浓度实验组活性有一定程度下降, 表现为抑制。说明汞胁迫对胃蛋白酶总体表现为激发作用, 低浓度下, 需要较长的胁迫时间逐渐表现出胁迫响应; 浓度越高, 激发响应越迅速。长期高浓度胁迫(0.04、

0.08mg/L), 则激发效应减弱, 其酶活性逐渐接近对照组, 可能高浓度产时间胁迫超出了机体调节能力。

#### 2.1.3 汞胁迫对拟穴青蟹胃脂肪酶的影响

汞胁迫对拟穴青蟹胃脂肪酶活性的影响见图 3。由图 3 可见, 对照组脂肪酶活性随实验时间延长而呈持续上升趋势。高浓度胁迫对 LPS 表现为一定程度的激发作用, 如 1d 下 0.08mg/L 组、5d 下 0.04mg/L 其 LPS 活性高于对照组, 但多数实验组 LPS 活力表现为抑制。随着胁迫时间延长, 实验组和对照组的 LPS 活性差异趋于显著。说明汞胁迫对 LPS 的影响多表现为抑制作用, 且抑制效应随时间延长而增强。

### 2.2 汞胁迫对拟穴青蟹主要免疫因子的影响

#### 2.2.1 汞胁迫对拟穴青蟹碱性磷酸酶(AKP)的影响

汞胁迫下拟穴青蟹肝胰脏 AKP 活性变化见图 4。对照

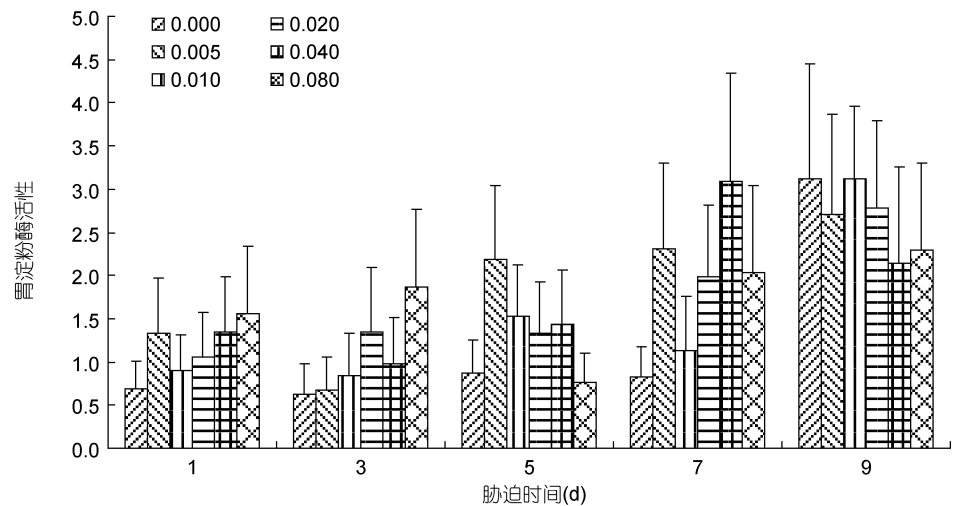


图 1 汞胁迫对拟穴青蟹胃淀粉酶活性的影响

Fig.1 Effects of Hg<sup>2+</sup> stress on AMS activities in stomach of *S. paramamosain*

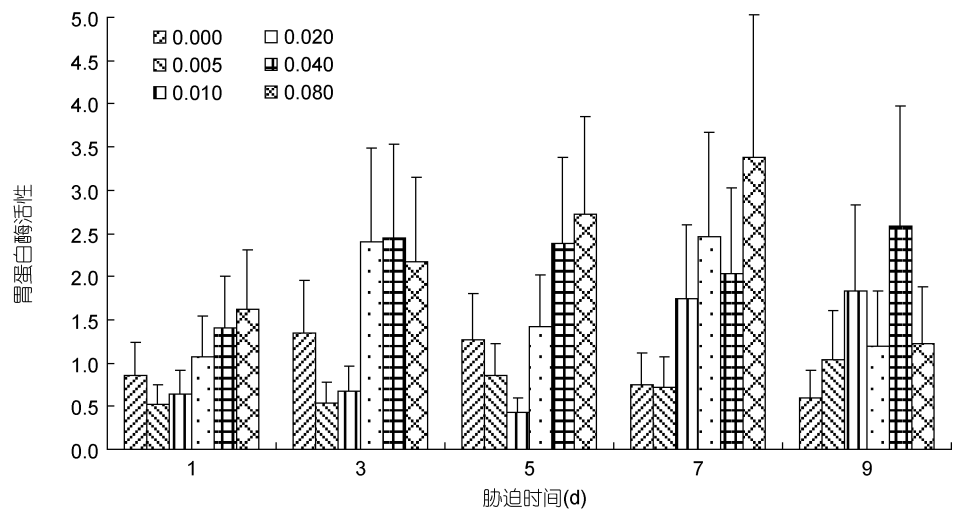


图 2 汞胁迫对拟穴青蟹胃蛋白酶活性的影响

Fig.2 Effects of Hg<sup>2+</sup> Stress on Pepsin activities in stomach of *S. paramamosain*

组肝胰脏中 AKP 活性相对稳定, 呈小幅波动。在 1d 样品中, 对照组 AKP 活性即与实验组存在显著差异, 显示汞胁迫对 AKP 活性迅速产生了激发作用。在整个实验周期中, 各实验组 AKP 活性均高于同期对照组。随时间延长, 对照组和实验组差异趋于显著。说明汞胁迫对 AKP 影响主要表现为激发作用, 可迅速刺激机体 AKP 活力上升, 且影响程度随胁迫作用时间而增强, 显示其胁迫效果具有时间效应。低浓度汞胁迫对肝胰脏中 AKP 活性提升最显著(0.005、0.01、0.02 组), 而高浓度组 AKP 活性随着胁迫时间延长有先升后降的趋势。

**2.2.2 汞胁迫对拟穴青蟹胃酸磷酸酶(ACP) 汞胁迫下拟穴青蟹肝胰脏中 ACP 活性变化见图 5。**由图 5 可以看出, 实验组和对照组 ACP 活性均随实验时间延长而呈上升趋势, 各浓度实验组 ACP 活性绝大多数情况下显著高于同时间对照组, 且随着实验时间延长, 实验组和对照组间 ACP 活性差异逐渐增大。在较短的胁迫时间下(1d、3d), 各实验组之间 ACP 活性差异不显著, 但是在较长的作用周期下(7d、9d), AKP 活性和胁迫浓度之间有较显著的正相关关系, 最高 ACP 活性有随着胁迫浓度增加而增加的趋势。说明汞胁迫对 ACP 活性有激发作用, 且激发作用存在显著的时间效应和浓度效应。

**2.2.3 汞胁迫对拟穴青蟹超氧化物歧化酶(SOD) 汞**

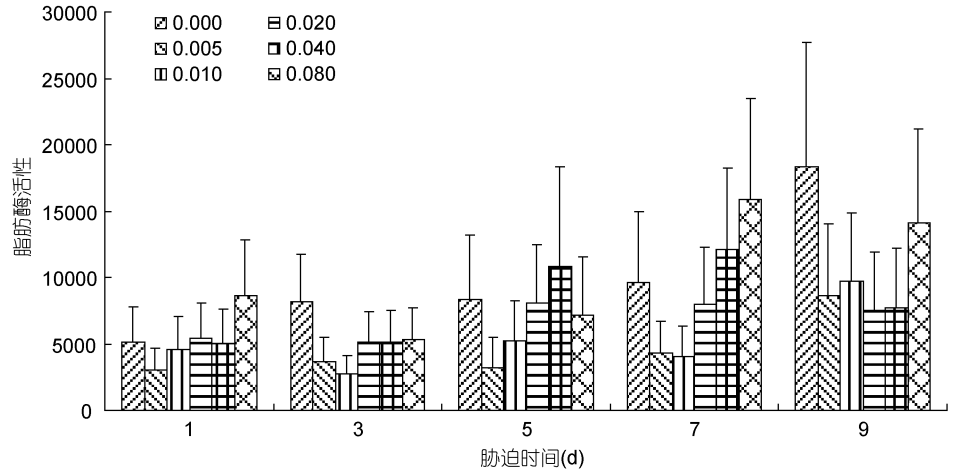


图 3 汞胁迫对拟穴青蟹胃脂肪酶活性的影响

Fig.3 Effects of Hg<sup>2+</sup> Stress on LPS activities in stomach of *S. paramamosain*

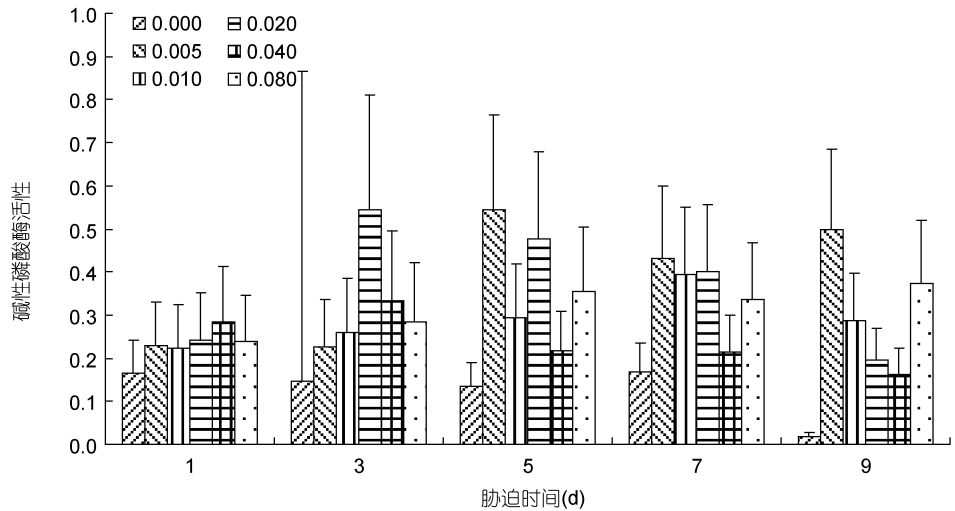


图 4 汞胁迫对拟穴青蟹肝胰脏碱性磷酸酶活性的影响

Fig.4 Effects of Hg<sup>2+</sup> Stress on ACP activities in hepatopancreas of *S. paramamosain*

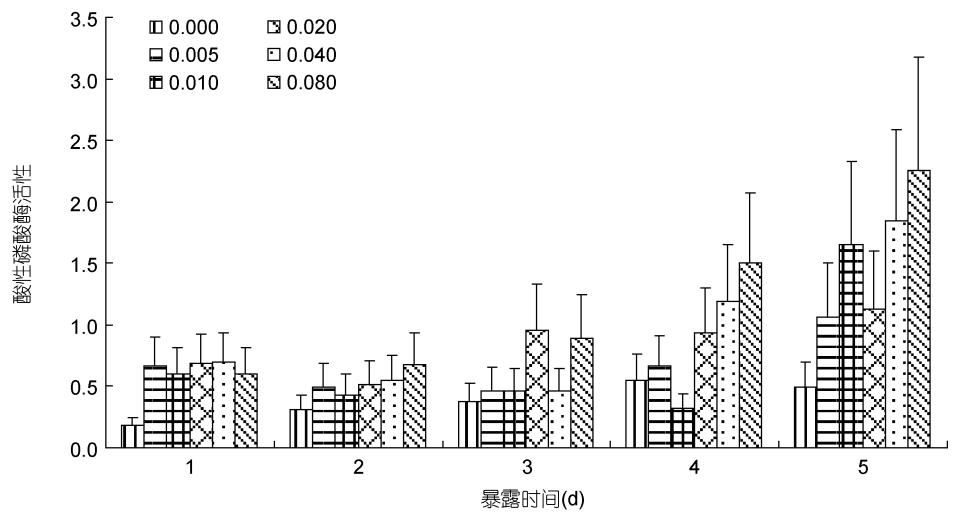


图 5 汞胁迫对拟穴青蟹肝胰脏酸性磷酸酶活性的影响

Fig.5 Effects of Hg<sup>2+</sup> Stress on ACP activities in hepatopancreas of *S. paramamosain*

胁迫下拟穴青蟹肝胰脏超氧化物歧化酶活性变化见图 6。

对照组 SOD 活力在整个实验周期内均维持较稳定, 各实验组随着胁迫时间延长, 其 SOD 活力逐渐增加, 在 9d 达到最高峰。在较短的胁迫时间下, 低浓度胁迫对 SOD 活力激活作用显著, 高浓度胁迫下 SOD 活力被抑制; 但在实验后期, 尤其是 9d 胁迫时间下, 各实验组 SOD 活力均显著高于对照组( $P<0.05$ )。说明汞胁迫对拟穴青蟹肝胰脏 SOD 活力有显著影响, SOD 活力对低浓度胁迫反应敏感, 短期内即显著升高, 且 SOD 活力随胁迫时间延长而持续升高, 表现出时间效应。

**2.2.4 汞胁迫对拟穴青蟹酚氧化酶(PO) 活力变化** 拟穴青蟹酚氧化酶活力变化见图 7。对照组酚氧化酶在实验周期内呈高活性并保持相对稳定。在 1d 的胁迫时间下, 各实验组 PO 活力即显著低于对照组, 在各胁迫时间下, 对照组 PO 活力均显著高于各实验组( $P<0.05$ ), 显示汞胁迫对 PO 活力快速产生抑制作用。

随着实验时间延长, 各浓度组 PO 活力逐渐下降, 和对照组之间活性差异越来越显著, 显示出一定的时间效应。在相同作用时间下, 不同浓度组之间 PO 活力没有显著差异, 剂量效应不显著。说明汞胁迫对 PO 活性能快速产生抑制效应, 且随着胁迫时间延长抑制效应增加, 但胁迫效果和胁迫浓度没有显著相关性。

**2.2.5 汞胁迫对拟穴青蟹溶菌酶(LZM) 活力变化** 不同胁迫浓度下拟穴青蟹肝胰脏溶菌酶活性变化见图 8。在早期(1d、3d)对照组 LZM 活性维持相对稳定, 实验组 LZM 活性比高于对照组, 但 1d、3d 样本组间差异不显著。随着胁迫时间延长, 各实验组 LZM 活性均持续上升, 其中低浓度组(0.005, 0.01mg/L)上升速度较平缓, 高浓度组(0.02、0.04、0.08mg/L)早期变化不显著,

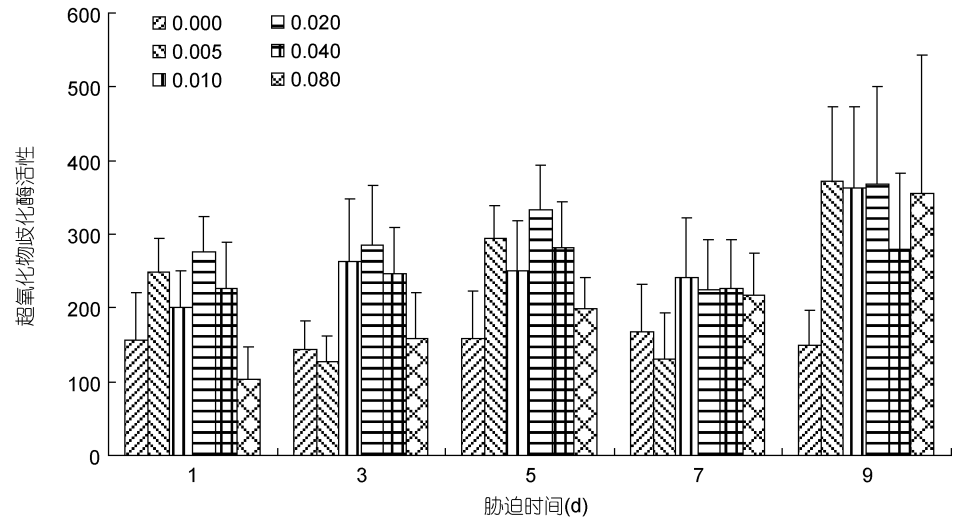


图 6 汞胁迫对拟穴青蟹肝胰脏超氧化物歧化酶活性的影响

Fig.6 Effects of  $Hg^{2+}$  Stress on SOD activities in hepatopancreas of *S. paramamosain*

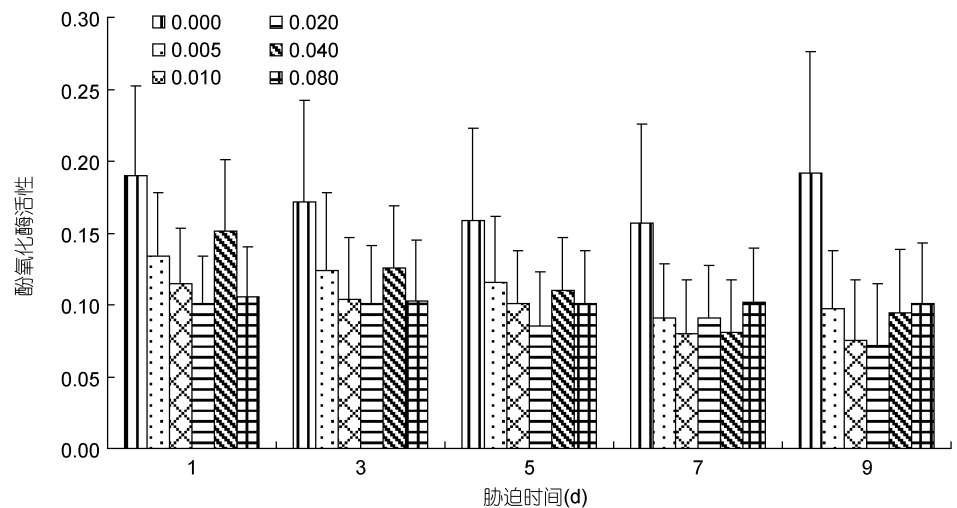


图 7 汞胁迫对拟穴青蟹肝胰脏酚氧化酶活性的影响

Fig.7 Effects of  $Hg^{2+}$  Stress on PO activities in hepatopancreas of *S. paramamosain*

实验后期 LZM 活性大幅度升高, 实验后期各实验组和对照组 LZM 活性差异达到显著水平。说明汞胁迫对肝胰脏 LZM 活性有激活作用, 且对 LZM 活性的影响有时间效应。随着胁迫时间延长, 不同浓度组的 LZM 活性和胁迫浓度逐渐呈现正相关关系, 说明汞胁迫对 LZM 活性也有较显著的剂量效应。

### 3 讨论

#### 3.1 汞胁迫对拟穴青蟹主要消化酶的影响

本实验是在饥饿条件下实施的, 饥饿胁迫对消化酶的分泌产生影响, 实验结果表明, 对照组在饥饿胁迫下其 3 种消化酶本身存在动态变化, 其中 AMS、LPS 随实验时间延长而持续上升, 酶活性-实验时间

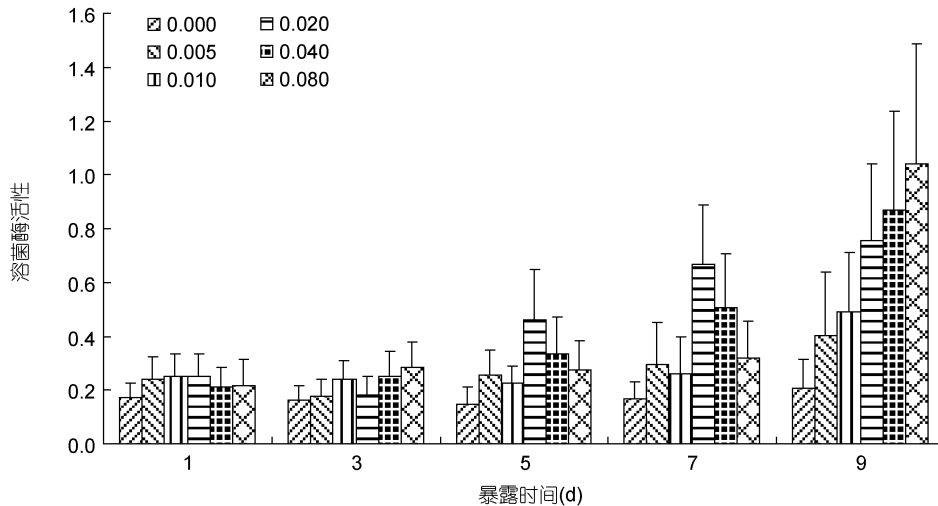


图 8 汞胁迫对拟穴青蟹肝胰脏溶菌酶活性的影响

Fig.8 Effects of  $Hg^{2+}$  Stress on LZM activities in hepatopancreas of *S. paramamosain*

呈正相关关系; Pepsin 的活性则呈先升后降的趋势。通过各浓度组和对照组在相同时间背景下的消化酶活性, 也可以讨论重金属胁迫对消化酶的影响方式。

关于重金属胁迫对于甲壳动物的影响, 以往多限于免疫因子应答的研究(闫博等, 2007; 蒋云霞等, 2010; 赵艳民等, 2011), 而对于消化酶的影响研究较少涉及。贾景涛等(2012)的研究表明, 在饲料中添加重金属镉, 罗非鱼肠道淀粉酶活性和蛋白酶活性均显著低于对照组, 证实了镉胁迫对罗非鱼消化酶具有抑制作用, 并呈剂量-效应关系。Al-Weher(2008)研究发现, 饲料铅对罗非鱼肠道淀粉酶、蛋白酶和脂肪酶均有一定的抑制作用, 并具有剂量-效应关系。消化酶是一类水解酶, 其活力的变化能直接反映动物的代谢状况和对环境的适应程度。有毒金属进入机体后, 与酶之间可能存在以下两种作用形式: (1) 有毒重金属置换酶活性中心的必需金属; (2) 有毒金属结合到酶分子中的咪唑基、羟基、巯基、氨基、肽基等功能基团而导致酶失活。

本研究结果表明, 汞胁迫对于拟穴青蟹胃淀粉酶活性有显著的影响, 但对消化酶的影响程度和胁迫浓度、胁迫时间以及消化酶种类等均有关。各实验组 AMS 活性均显著高于对照组, 且 AMS 活性峰值出现在 9d, 说明汞胁迫对 AMS 活性有激发作用, 且随着胁迫时间延长 AMS 活力持续上升, 说明 AMS 活性和胁迫时间有较显著相关。在实验后期, AMS 活性随胁迫浓度增加而有下降趋势, 表明长期汞胁迫对 AMS 活性产生了抑制作用, 可能是持续的高浓度胁迫超出了机体调节能力。汞胁迫对胃蛋白酶也主要表现为

激活作用, 低浓度组早期酶活力水平激发作用不显著, 实验后期活力逐渐超出对照组; 高浓度组迅速产生激发效应, 并在 5—7d 达到高峰, 后逐渐降低, 但仍显著高于对照组活力水平。汞胁迫对 LPS 的影响多表现为抑制作用, 且随着胁迫时间延长, 酶活力进一步被抑制, 胁迫作用具有时间效应。说明对于不同的消化酶, 汞胁迫对其的影响方式并不一致。由于在整个实验过程中不投喂饵料, 实验个体处于饥饿状态, 其消化酶水平本身处于动态之

中。因此, 在讨论汞胁迫对消化酶影响方式的时候, 首先应考虑饥饿对消化酶的影响, 主要比较相同作用时间下各组消化酶的差异。

### 3.2 汞胁迫对拟穴青蟹肝胰脏免疫水平的影响

拟穴青蟹为非特异性免疫, 研究表明, 铵氮、pH 等环境因子的变化均会导致拟穴青蟹的免疫应答(黄鹤忠等, 2006; 金珊等, 2008; 曾缓缓等, 2008)。甲壳动物组织中的某些酶和机体免疫力直接相关。AKP 和 ACP 是溶酶体的标志酶, 是吞噬细胞杀菌的物质基础, AKP 和 ACP 是甲壳动物体内两种非特异性免疫因子, 在虾、蟹类免疫防御中具有重要的作用(陈清西等, 1996; 王维娜等, 2002); SOD 是生物体内一种重要抗氧化防御酶, 其基本功能是清除由代谢产生的活性氧, 控制自由基引起质膜过氧化(陈宇锋等, 2007)。当虾蟹机体受到轻度逆境胁迫时, SOD 活性被诱导, 而受重度逆境胁迫时, 其活性则被抑制。SOD 活性可以作为虾蟹类免疫反应的一个重要指标; 溶菌酶是一种专门作用于微生物细胞壁的水解酶, 从而破坏细菌的细胞壁, 使之松弛而失去对细胞的保护作用, 最终使细菌溶解死亡。因此, 它们也可作为衡量甲壳动物免疫功能强弱的指标(徐海圣等, 2001)。

赵艳民等(2011)的研究表明, 较低浓度  $Hg(0.01$  和  $0.05mg/L)$  处理组中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)血淋巴 SOD、GPX、CAT 活力在短时间内上升, 表现出一种“毒物兴奋效应”, 随着暴露时间的延长, 三种酶的酶活力均受到明显抑制; 刘占才等(2007)的研究表明, 在  $0.05$  和  $0.10mg/L$  浓度  $Hg$  胁迫下, 对草鱼

(*Ctenopharyngodon idllus*)血清和肾脏 LSZ 有激活作用, 在高于 0.05 和 0.15mg/L 浓度胁迫下分别对血清和肾脏 LSZ 有显著的抑制作用( $P<0.01$ )。Liu 等(2003)、Jing 等(2007)、Tan 等(2007)的研究结果也表明, 重金属胁迫可影响虾蟹机体的免疫与抗氧化酶活性。本实验结果表明, 汞胁迫对拟穴青蟹肝胰脏 AKP、ACP、SOD、LZM 活性主要产生激发作用, 低浓度汞胁迫通常存在时间效应, 即: 随着胁迫时间延长, 其胁迫效果有逐渐增加的趋势。长期高浓度汞胁迫对 AKP 则产生抑制效应。汞胁迫对拟穴青蟹免疫因子具有显著的影响。低浓度的重金属胁迫通常可产生所谓“毒物兴奋效应”, 对免疫因子活性产生激发作用, 而长时间或者过高浓度的重金属胁迫可能超出了拟穴青蟹自身的生理调节极限, 从而表现为免疫因子抑制。

甲壳动物 PO 能够通过识别异物、释放调理素等促进血细胞的吞噬和包囊, 并产生杀灭和排除异物的凝集素和溶菌酶; 甲壳类 PO 是由丝氨酸蛋白酶等因子组成的 PO 原激活系统(proPO 系统), 作为识别、排斥和杀灭异物的重要免疫活性分子, 参与甲壳动物抗感染主要过程, 与机体免疫功能有直接关系(孟凡伦等, 1999)。PO 活性在一定程度上反映了机体免疫机能状态, 重金属胁迫下的虾蟹类, 其自身免疫功能降低, 其中一个重要方面可能是 proPO 系统遭到破坏。蒋云霞等(2010)的研究表明, 拟穴青蟹血清 PO 活性在  $Cd^{2+}$  胁迫或  $Cr^{6+}$  胁迫均被显著抑制, 但剂量效应关系不明显。本研究结果表明, 拟穴青蟹在汞胁迫下, 肝胰脏 PO 活性水平迅速下降, 与对照组产生显著活性差异, 且随着胁迫时间延长, PO 活力呈持续下降态势; PO 活性和胁迫浓度也有较显著的正相关关系, 与前者的结论基本吻合。

### 参 考 文 献

- 王亚炜, 魏源送, 刘俊新, 2008. 水生生物重金属富集模型研究进展. 环境科学学报, 28(1): 12—20
- 王维娜, 孙儒泳, 王安利等, 2002. 环境因子对日本沼虾消化酶和碱性磷酸酶的影响. 应用生态学报, 13(9): 1153—1156
- 刘占才, 牛俊英, 孔祥会等, 2007. 汞离子对草鱼血清和肾脏溶菌酶活性的影响. 安徽农业科学, 35(9): 2615—2616
- 闫博, 王兰, 李涌泉等, 2007. 镉对长江华溪蟹肝胰脏抗氧化酶活力的影响. 动物学报, 53(6): 1121—1128
- 陈宇锋, 艾春香, 林琼武等, 2007. 盐度胁迫对锯缘青蟹血清及组织、器官中 PO 和 SOD 活性的影响. 台湾海峡, 26(4): 569—575
- 陈清西, 陈素丽, 石艳等, 1996. 长毛对虾碱性磷酸酶性质. 厦门大学学报(自然科学版), 35(2): 257—261
- 金珊, 程岩雄, 杨玉姣等, 2008. 铵氮胁迫对拟穴青蟹 *Scylla paramamosain* 免疫力的影响. 浙江农业学报, 20(6): 402—407
- 孟凡伦, 张玉臻, 孔健等, 1999. 甲壳动物中的酚氧化酶原激活系统研究评价. 海洋与湖沼, 30(1): 110—116
- 赵艳民, 王新华, 秦延文等, 2011. 水体  $Hg^{2+}$  对中华绒螯蟹 (*Eriocheir sinensis*) 抗氧化酶活力和丙二醛含量的影响. 海洋与湖沼, 42(3): 436—442
- 贾景涛, 翟少伟, 阙炳根, 2012. 不同水平饲料镉对罗非鱼生长性能和肠道消化酶活性影响的研究. 农学学报, 2(10): 58—61
- 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
- 翁朝红, 谢仰杰, 2001. 环境因素对鱼类免疫功能的影响. 集美大学学报, 6(2): 184—189
- 黄鹤忠, 李义, 宋学宏等, 2006. 铵氮胁迫对中华绒螯蟹 (*Eriocheir sinensis*) 免疫功能的影响. 海洋与湖沼, 37(3): 198—205
- 蒋云霞, 徐华, 艾春香, 2010. 镉或铬胁迫对拟穴青蟹血细胞总数和酚氧化酶活性的影响. 海洋通报, 29(6): 649—653
- 曾缓缓, 艾春香, 刘建国等, 2008. pH 胁迫对拟穴青蟹体内几种免疫因子的影响. 厦门大学学报(自然科学版), 47(3): 413—418
- Al-Weher S M, 2008. Levels of heavy metal Cd, Cu and Zn in three fish species collected from the North Jordan Valley, Jordan. Journal of Biological Sciences, 1(1): 41—46
- Choi S, Wai O, Choi T *et al*, 2006. Distribution of cadmium, chromium, copper, lead and zinc in marine sediments in Hong Kong waters. Environmental Geology, 51(3): 455—461
- Jing G, Li Y, Xie L *et al*, 2007. Different effects of  $Pb^{2+}$  and  $Cu^{2+}$  on immune and antioxidant enzyme activities in the mantle of *Pinctada fucata*. Environ Toxicol Pharmacol, 24(2): 122—128
- Liu X L, Zhou Z L, Chen L Q, 2003. Effect of cadmium on antioxidant enzyme activities of the juvenile *Eriocheir sinensis*. Mar Sci, 27(8): 59—62
- Lygren B, Hamre K, Waagbo R, 1999. Effects of dietary pro-and antioxidants on some protective mechanisms and health parameters in Atlantic salmon *Salmo salar* L. Journal of Aquatic Animal Health, 11: 211—221
- Tan S H, Deng X Y, Jiang W M *et al*, 2007. Effects of high level chromium on antioxidant enzyme system in gill and hepatopancreas of *Procambarus clarkia*. J Agro-Environ Sci, 26(4): 1356—1360

## THE EFFECTS OF Hg<sup>2+</sup> STRESS ON MAIN DIGEST FACTORS AND IMMUNE FACTORS OF *SCYLLA PARAMAMOSAIN*

LI Wen-Jing<sup>1,2</sup>, CHEN Qiang<sup>1,2</sup>, YANG Huan<sup>1</sup>, LI Zhong-Bao<sup>1,2</sup>,  
CHEN Tai-Rong<sup>1</sup>, WU Chuan-Qi<sup>1</sup>

(1. Fishery School of Jimei University, Xiamen, 361021; 2. Fujian Provincial Key Laboratory of Marine Fishery Resources and Eco-environment, Xiamen, 361021)

**Abstract** An experimental ecology method was conducted to investigate the main digest factors and immune factors activities of *Scylla paramamosain* exposed to different concentrations of water-borne Hg<sup>2+</sup> (0.005, 0.01, 0.02, 0.04, 0.08mg/L) from 1d to 9d with the natural seawater (salinity 16±1, pH 7.5±0.3) as control. The results showed that the activities of AMS in stomach increased rapidly but the activation effect declined with the extending of the experiment, and inhibitory effect was observed at the late period of the experiment (9d). The Pepsin activities in stomach were increased and positive correlated with the experimental period and Hg<sup>2+</sup> stress intensity, but the Pepsin activities in high Hg<sup>2+</sup> stress intensity (0.04, 0.08mg/L) groups declined near to the control group at the end of the experiment. The LPS activities in the stomach were declined by Hg<sup>2+</sup> stress and the effective enhanced with the experimental period. The results of immune factors analysis showed that the activities of AKP in hepatopancreas were increased rapidly, and lower Hg<sup>2+</sup> stress intensity groups (0.005, 0.01, 0.02mg/L) had the most significant improvement of AKP activities, the AKP activities in higher Hg<sup>2+</sup> stress intensity groups (0.04, 0.08mg/L) increased at first and declined at the end. The activities of ACP in hepatopancreas were increased by Hg<sup>2+</sup> stress, and the time effect and dosage effect is conspicuous. The activities of SOD increased immediately (1d) in Hg<sup>2+</sup> stress and increased gradually during the whole experiment. The activities of LZM were increased and the time effect and dosage effect was visible. Nevertheless, the activities of PO declined by Hg<sup>2+</sup> stress, and gradually reduced during the experiment, but there was no significant correlation between the PO activities and the Hg<sup>2+</sup> stress intensity. In summary, Hg<sup>2+</sup> stress affected the activities of digest factors and immune factors of *S. paramamosain*, the activities of Pepsin, AMS, AKP, ACP, SOD and LZM were generally increased, while the activities of LPS and PO were declined.

**Key words** Hg<sup>2+</sup>; *Scylla paramamosain*; digest factors; immune factors