

水体 Hg^{2+} 对中华绒螯蟹肝胰腺和血淋巴酶活性的影响

赵艳民^{1,2}, 张雷^{1,2}, 王新华³, 秦延文^{1,2,*}, 郑丙辉^{1,2}

1. 中国环境科学研究院 环境基准与风险评估国家重点实验室 北京 100012
2. 中国环境科学研究院 国家环境保护河口与海岸带环境重点实验室 北京 100012
3. 南开大学生命科学学院 天津 300071

摘要: 以中华绒螯蟹 (*Eriocheir sinensis*) 作为暴露生物, 检测了水体 Hg^{2+} 对中华绒螯蟹肝胰腺、血淋巴谷丙转氨酶 (GPT)、谷草转氨酶 (GOT)、碱性磷酸酶 (AKP) 和酸性磷酸酶 (ACP) 活性的影响。结果表明, 肝胰腺中 GPT 和 GOT 活性随水体中 Hg^{2+} 浓度 ($0.01 \sim 0.30 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 升高而降低; 中华绒螯蟹血淋巴中 GPT 和 GOT 活性变化趋于分化, $0 \sim 0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 暴露组, 随 Hg^{2+} 浓度升高血淋巴 GPT 活性迅速上升, $0.10 \sim 0.30 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 暴露组, 随 Hg^{2+} 浓度升高血淋巴 GPT 活性迅速下降; GOT 活性随着水体 Hg^{2+} 暴露浓度的升高则持续上升, 表现出“剂量-效应”正相关; 两种组织中 AKP 和 ACP 活性随暴露浓度的升高都表现出“低-高-低”的变化趋势, 并且最高值均出现在 $0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 Hg^{2+} 处理组。4 种酶活性对水环境中 Hg^{2+} 反应灵敏, 可作为中华绒螯蟹毒理学评价指标以及重金属监测指标。

关键词: 中华绒螯蟹; Hg^{2+} ; 肝胰腺; 血淋巴; 谷丙转氨酶 (GPT); 谷草转氨酶 (GOT); 碱性磷酸酶 (AKP); 酸性磷酸酶 (ACP)

文章编号: 1673-5897(2012)6-620-07 **中图分类号:** X171.5 **文献标识码:** A

Effects of Hg^{2+} on Activities of Enzyme in Hepatopancreas and Haemolymph of Chinese Mitten Crab, *Eriocheir sinensis*

Zhao Yanmin^{1,2,3}, Zhang Lei^{1,2}, Wang Xinhua³, Qin Yanwen^{1,2,*}, Zheng Binghui^{1,2}

1. National Key Laboratory of Environmental Criteria and Risk Assessment, Chinese Research Academy of Environmental Sciences, Beijing 100012, China
2. State Environmental Protection Key Laboratory of Estuary and Coastal Environment, Chinese Research Academy of Environmental Sciences, Beijing 100012, China
3. College of Life Science, Nankai University, Tianjin 300071, China

Received 11 December 2011 **accepted** 13 February 2012

Abstract: Toxic effects of mercury (Hg^{2+}) on Chinese mitten were investigated by measuring glutamic pyruvic transaminase (GPT), glutamic oxaloacetic transaminase (GOT), alkaline phosphatase (AKP) and acid phosphatase (ACP) activities in haemolymph and hepatopancreas. Results showed that $0.01 \sim 0.30 \text{ mg L}^{-1} \text{ Hg}^{2+}$ inhibited GPT and GOT activities in hepatopancreas. Raising the concentration of Hg^{2+} in the range of 0.01 and 0.05 mg L^{-1} , GPT activities in haemolymph increased, while GPT activities decreased in $0.10 \sim 0.30 \text{ mg L}^{-1} \text{ Hg}^{2+}$. GOT activities in haemolymph increased with elevated Hg^{2+} concentrations, which appeared as a "dose-effect" positive correlation. With the concentration of Hg^{2+} increased, both GPT and GOT activities decreased at first and then decreased in hepatopancreas or in haemolymph of *Eriocheir sinensis*, and the highest value of these two enzymes activi-

收稿日期: 2011-12-11 录用日期: 2012-02-13

基金项目: 国家水体污染与控制重大专项 (2012ZX07503)

作者简介: 赵艳民 (1979-) 男, 博士, 研究方向: 水生动物毒理学; E-mail: yanminzhao@yahoo.com.cn;

* 通讯作者 (Corresponding author) E-mail: Qinyw@craes.org.cn

ties appeared in $0.05 \text{ mg L}^{-1} \text{ Hg}^{2+}$ treated group. These four enzymes were sensitive to ambient Hg^{2+} , which could be used as biomarkers to evaluate the toxicity of mercury or any other heavy metals contamination in water environment.

Keywords: *Eriocheir sinensis*; Hg^{2+} ; hepatopancreas; haemolymph; GPT; GOT; AKP; ACP

汞(Hg)是一种具有持久性、易迁移性和高度生物富集性的全球污染物,主要来源于燃煤火力发电、垃圾焚烧、水银法氯碱生产、水泥生产、有色金属和钢铁生产等。近年来,随着工农业的发展,我国已经成为汞生产、消费大国,同时也是全球范围内汞污染最为严重的地区之一^[1-2]。

作为一种生物非必需重金属元素,汞无法在生物本身的物质循环和能量代谢过程中去除,因此对水生动物的毒性远高于其他重金属^[3]。然而,目前汞对水生甲壳动物的影响研究仍主要集中在半致死浓度确定^[4-5],关于汞离子对水生甲壳动物生化指标影响的研究尚不多见^[6]。

谷丙转氨酶(glutamic pyruvic transaminase, GPT, EC 2.6.1.2)和谷草转氨酶(glutamic oxaloacetic transaminase, GOT, EC 2.6.1.1)是生物体内两种重要的转氨酶,主要存在于动物细胞内,对蛋白质代谢起到重要作用^[7]。碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, AKP, EC 3.1.3.1)和酸性磷酸酶(acid phosphatase, ACP, EC 3.1.3.2)是动物代谢过程中两种重要的调控酶,分别在碱性条件下调节动物体内钙磷吸收、维持钙磷平衡^[8],以及在酸性条件下催化磷酸单酯水解,参与磷脂代谢、能量转化以及信号传导等功能^[9],是水生动物赖以生存和生长的重要调控酶类。近年来,谷丙转氨酶(GPT)和谷草转氨酶(GOT)、碱性磷酸酶(AKP)和酸性磷酸酶(ACP)已用作研究环境污染物致毒机理的生化指标^[10]。

中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)隶属甲壳纲(Crustacea)、十足目(Decapoda),俗称河蟹、毛蟹、大闸蟹,在我国北起辽河(北纬 42°),南至闽江(北纬 27°)的渤海、黄海与东海沿岸诸省均有分布^[11],是我国最重要的经济水产养殖品种之一。本研究以中华绒螯蟹作为研究对象,研究水体 Hg^{2+} 对其血淋巴和肝胰腺碱性磷酸酶、酸性磷酸酶、谷丙转氨酶以及谷草转氨酶活性的影响,以期为研究汞对中华绒螯蟹的毒性效应机理,评价养殖水环境及中华绒螯蟹的健康养殖提供理论依据。

1 材料和方法(Material and methods)

1.1 实验动物

2008年6月11日—7月24日在南开大学水生

生物学实验室进行实验动物的养殖。实验所用中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)购自天津市宁河县水产养殖场,个体平均湿重为 $(27.37 \pm 2.23) \text{ g}$ 。

1.2 Hg^{2+} 处理浓度和饲养管理

1.354 g 氯化汞(国产分析纯)溶解于1 L 蒸馏水中配置为 Hg^{2+} 为 $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的实验储液。实验储液与曝气自来水混合配制所需实验溶液。

正式暴露实验开始前暂养10 d,实验用水为充分曝气的自来水($\text{pH } 7.5 \pm 0.5$; 硬度 $(213.5 \pm 5.0) \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ CaCO}_3$; 本地 Hg^{2+} 浓度为 $0.0034 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)。暂养期间投喂上海大江饲料公司生产的蟹用上品饲料(蛋白质32%,粗脂肪4.0%,粗纤维8.0%,灰分12%),饲料中汞含量低于检出限。暂养结束后随机分组,选取体表清洁有光泽、健康活泼的个体进行正式实验。

暴露实验中,设置0.01、0.05、0.10、0.20和0.30 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 作为本实验的暴露浓度,并添加对照组。选取体色正常、健康活泼的蟹置于 $(40 \text{ cm} \times 30 \text{ cm} \times 20 \text{ cm})$ 聚乙烯水族箱内,每箱10只(5雌5雄),箱内加入10 L各设置浓度的 Hg^{2+} 处理溶液,实验设置3个平行。实验期间每天于9:00和17:00按体重的5%两次投喂上述蟹用饲料。下午投喂之前清除粪便及残饵,并更换50%的实验溶液。实验期间水温、pH值和溶氧分别为 $(22 \pm 2)^\circ\text{C}$ 、 7.5 ± 1.0 、 $(7.5 \pm 0.5) \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

1.3 样品取材

整个暴露实验进行14 d,从每个处理组的3个平行组中各取5只蟹,共15只,从蟹的第3对步足基部血窦抽取血淋巴,置 -70°C 冰箱冷冻保存;冰台上对中华绒螯蟹进行解剖,用镊子对蟹肝胰腺进行分离,分离到的肝胰腺样品置于 -70°C 冰箱保存。

酶活性测定时,取出冷冻的血淋巴样品, $7\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心收集血清用于测定酶活性。

酶活性测定前将冷冻肝胰腺样品约500 mg冰浴融化,按1/5的体积加入0.9%预冷生理盐水制成20%的匀浆液,匀浆液 4°C 条件下, $5\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心20 min,取上清液备用。上清液在进行酶活性测定之前根据测试盒说明用预冷生理盐水稀释到实验所需浓度。

1.4 指标测定方法

4种酶活性均采用南京建成生物研究所生产

的试剂盒测定。

组织蛋白含量采用南京建成公司考马斯亮兰蛋白测试盒进行测定。

1.5 数据处理

所有结果均以3组数据平均值标准差(Mean ± SD)表示,采用SPSS 15.0进行单因素方差分析(One-way ANOVA),并采用Duncan多重比较法检验组织间差异,差异显著临界值设定为0.05。

2 结果(Results)

2.1 水体 Hg^{2+} 对中华绒螯蟹谷丙转氨酶活性的影响

水体 Hg^{2+} 对中华绒螯蟹肝胰腺和血淋巴谷丙转氨酶活性的影响见图1。随着 Hg^{2+} 浓度的增高中华绒螯蟹肝胰腺 GPT 比活性逐渐下降 $0.01 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的处理组中华绒螯蟹肝胰腺 GPT 的比活性为 $156.18 \text{ U} \cdot \text{mg}^{-1}$ 蛋白,对照组酶比活性为 $191.08 \text{ U} \cdot \text{mg}^{-1}$ 蛋白,差异显著($p < 0.05$)。随着水环境 Hg^{2+} 升高至 0.05 、 0.10 和 $0.20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, GPT 酶比活性降至 134.95 、 103.78 和 $64.95 \text{ U} \cdot \text{mg}^{-1}$ 蛋白。 $0.30 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度组 GPT 比酶活性中华绒螯蟹肝胰腺 GPT 酶比活性最低,为 $57.44 \text{ U} \cdot \text{mg}^{-1}$ 蛋白,仅相当于对照组酶比活性的 $1/3$ 。

对照组中华绒螯蟹血淋巴中 GPT 比活性为 $2.64 \text{ U} \cdot \text{mg}^{-1}$ 蛋白,随 Hg^{2+} 浓度的升高表现出“低-高-低”的变化趋势。 0.01 、 0.05 和 $0.10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 Hg^{2+} 处理组中华绒螯蟹血淋巴 GPT 比活性分别为 3.24 、 3.91 和 $3.06 \text{ U} \cdot \text{mg}^{-1}$ 蛋白,均显著高于对照组酶比活性($p < 0.05$),而 0.20 和 $0.30 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 Hg^{2+} 处理组 GPT 比活性均显著低于对照组($p < 0.05$)。 $0.30 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 Hg^{2+} 处理组比活性仅为 $1.51 \text{ U} \cdot \text{mg}^{-1}$ 蛋白。

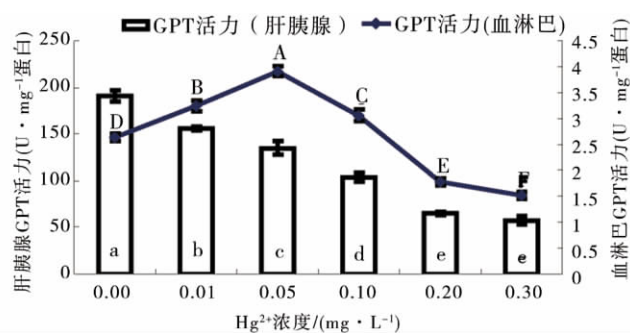


图1 水体 Hg^{2+} 对中华绒螯蟹肝胰腺和血淋巴 GPT 活性的影响

注:大写字母/小写字母相同表示不同暴露组没有显著性差异($p > 0.05$),下同。

Fig. 1 Effect of Hg^{2+} on GPT activities in hepatopancreas and haemolymph of *E. sinensis*

2.2 水体 Hg^{2+} 对中华绒螯蟹谷草转氨酶活性的影响

水体 Hg^{2+} 对中华绒螯蟹肝胰腺和血淋巴 GOT 酶比活性的影响见图2。肝胰腺中 GOT 比活性随水体 Hg^{2+} 的升高,呈现出与 GPT 比活性相似的变化趋势,同样随着水体 Hg^{2+} 的升高而降低。对照组 GOT 酶比活性最高,为 $146.33 \text{ U} \cdot \text{mg}^{-1}$ 蛋白。 $0.01 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度组蟹肝胰腺 GOT 比活性为 $120.27 \text{ U} \cdot \text{mg}^{-1}$ 蛋白,已经显著低于对照组($p < 0.05$)。 $0.30 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 Hg^{2+} 处理组中华绒螯蟹肝胰腺 GOT 酶比活性最低,仅为 $92.11 \text{ U} \cdot \text{mg}^{-1}$ 。

对照组中华绒螯蟹血淋巴 GOT 酶比活性为 $1.34 \text{ U} \cdot \text{mg}^{-1}$ 蛋白,约为肝胰腺 GOT 酶活性的 $1/100$ 。随着暴露 Hg^{2+} 的升高,血淋巴 GOT 比活性表现出逐渐升高的变化趋势。 $0.01 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 Hg^{2+} 处理组中华绒螯蟹血淋巴 GOT 比活性为 $1.38 \text{ U} \cdot \text{mg}^{-1}$ 蛋白,相比对照组尚没有表现出显著差异($p > 0.05$)。 $0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 Hg^{2+} 处理组血淋巴 GOT 比活性值上升 $1.71 \text{ U} \cdot \text{mg}^{-1}$ 蛋白,显著高于对照组($p < 0.05$)。 $0.20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Hg^{2+} 处理组血淋巴 GOT 比活性达到最高值为 $3.24 \text{ U} \cdot \text{mg}^{-1}$ 蛋白。

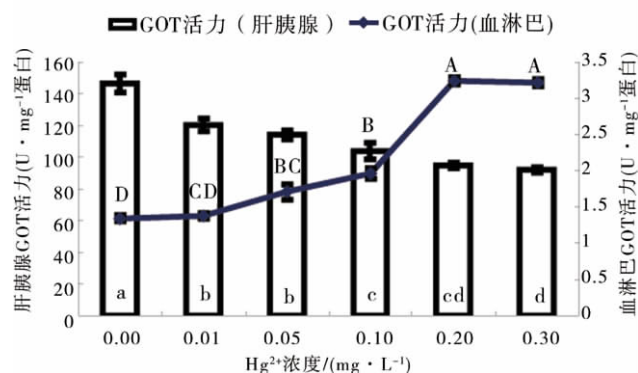


图2 水体 Hg^{2+} 对中华绒螯蟹肝胰腺和血淋巴 GOT 活性的影响

Fig. 2 Effect of Hg^{2+} on GOT activities in hepatopancreas and haemolymph of *E. sinensis*

2.3 水体 Hg^{2+} 对中华绒螯蟹碱性磷酸酶活性影响

水体 Hg^{2+} 对中华绒螯蟹肝胰腺和血淋巴碱性磷酸酶活性的影响见图3。水体 Hg^{2+} 对中华绒螯蟹肝胰腺碱性磷酸酶 AKP 活性均表现出低浓度刺激,高浓度抑制的变化趋势。较低浓度的 0.01 、 $0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Hg^{2+} 处理组肝胰腺 AKP 比活性相比对照组的 $273.28 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$ 蛋白略有增高,分别为 295.16 和 $295.21 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$ 蛋白;而 0.10 、 0.20 和 $0.30 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Hg^{2+} 浓度处理组酶比活性

迅速下降至 177.51 、 94.77 和 $67.42 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1} \text{ 蛋白}$, 均显著低于对照组 ($p < 0.05$)。

血淋巴 AKP 酶比活性的变化趋势与肝胰腺 AKP 酶比活性类似, 也是先增加后减少。对照组酶比活性为 $1.28 \text{ U} \cdot 100 \text{ mL}^{-1}$, 0.01 和 $0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Hg}^{2+}$ 浓度处理组分别为 1.81 和 $2.21 \text{ U} \cdot 100 \text{ mL}^{-1}$, 显著高于对照组 ($p < 0.05$); 而 0.10 、 0.20 和 $0.30 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Hg}^{2+}$ 浓度处理组 AKP 活性则为 1.06 、 0.78 和 $0.62 \text{ U} \cdot 100 \text{ mL}^{-1}$, 均显著低于对照组 ($p < 0.05$)。

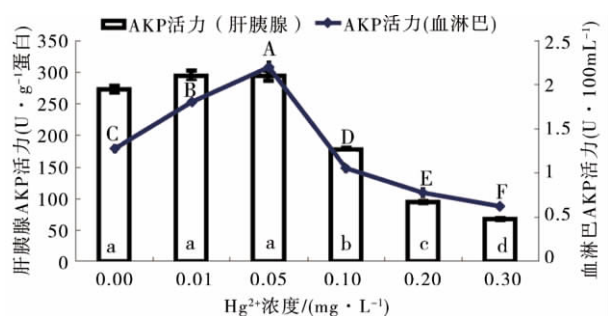


图3 水体 Hg^{2+} 对中华绒螯蟹肝胰腺和血淋巴 AKP 活性的影响

Fig. 3 Effect of Hg^{2+} on AKP activities in hepatopancreas and haemolymph of *E. sinensis*

2.4 水体 Hg^{2+} 对中华绒螯蟹酸性磷酸酶活性的影响

水环境中添加不同浓度的 Hg^{2+} 对中华绒螯蟹酸性磷酸酶活性的影响结果见图4。随着水体 Hg^{2+} 浓度的增高, 中华绒螯蟹肝胰腺 ACP 比酶活性先增加后减少。对照组中华绒螯蟹肝胰腺 ACP 比活性为 $126.31 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1} \text{ 蛋白}$, 当 Hg^{2+} 浓度为 $0.01 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, ACP 酶比活性升至 $136.18 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1} \text{ 蛋白}$; Hg^{2+} 浓度为 $0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 酶比活性上升至最大值 $148.69 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1} \text{ 蛋白}$, 显著高于对照组 ($p < 0.05$); 而随水体 Hg^{2+} 浓度上升至 0.20 和 $0.30 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 肝胰腺 ACP 比活性依次下降为 107.46 和 $81.43 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1} \text{ 蛋白}$, 显著低于对照组酶比活性 ($p < 0.05$)。

中华绒螯蟹血淋巴酸性磷酸酶活性随水体 Hg^{2+} 浓度的增加, 其变化趋势也呈现“低-高-低”的变化趋势。对照组血淋巴 ACP 比活性为 $1.84 \text{ U} \cdot 100 \text{ mL}^{-1}$, 0.01 和 $0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 Hg^{2+} 处理组 ACP 酶比活性迅速增加至 2.82 和 $2.83 \text{ U} \cdot 100 \text{ mL}^{-1}$, 均显著高于对照组酶比活性 ($p < 0.05$); 而随着水体 Hg^{2+} 浓度达到 $0.10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 血淋巴 ACP 比活性迅速下降为 $1.48 \text{ U} \cdot 100 \text{ mL}^{-1}$, 0.20 和 $0.30 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 Hg^{2+} 处理组 ACP 酶比活性更是降至 0.93 和 $0.61 \text{ U} \cdot 100 \text{ mL}^{-1}$; 当

Hg^{2+} 浓度持续升高时, ACP 比活性开始显著下降, 并在 $0.30 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时下降到最小值, 为 $0.579 \text{ U} \cdot 100 \text{ mL}^{-1}$, 均显著低于对照组酶比活性 ($p < 0.05$)。

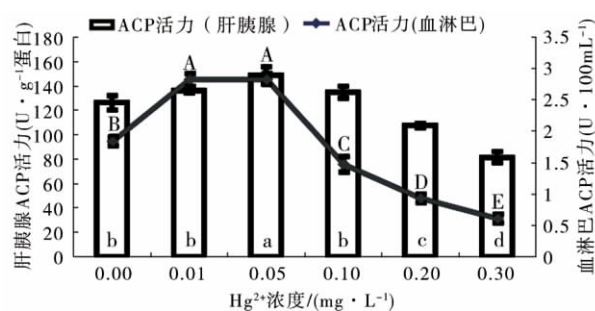


图4 水体 Hg^{2+} 对中华绒螯蟹肝胰腺和血淋巴 ACP 活性的影响

Fig. 4 Effect of Hg^{2+} on ACP activities in hepatopancreas and haemolymph of *E. sinensis*

3 讨论 (Discussion)

谷丙转氨酶 GPT 和谷草转氨酶 GOT 是广泛存在于动物细胞线粒体中的重要氨基转移酶, 在机体蛋白质代谢中起到重要作用^[12], 当组织中毒发生病变或因大面积损伤引起细胞通透性增加时, 细胞内 GPT 和 GOT 大量外泄, 致使细胞内酶活性降低^[10]。本研究, 在水体 Hg^{2+} 胁迫条件下, 中华绒螯蟹肝胰腺 GPT 和 GOT 活性变化趋势趋于一致。 $0.01 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度的 Hg^{2+} 处理后, GPT 和 GOT 酶比活性即显著低于对照组酶比活性, 随着水体 Hg^{2+} 浓度的升高, 两种转氨酶比活性持续下降, 表明水体 Hg^{2+} 与水体中 Cd^{2+} 一样^[12], 能够引起中华绒螯蟹肝胰腺细胞以及相应的膜细胞器受损, 使细胞通透性变大, 肝胰腺细胞中 GPT 和 GOT 外泄而引发肝胰腺酶比活性下降。

水体 Hg^{2+} 胁迫条件下, 中华绒螯蟹血淋巴 GPT 和 GOT 两种酶比活性的变化趋势有所分化。自对照组至 $0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Hg}^{2+}$ 处理组, 血淋巴 GPT 比活性上升较快, 并在 $0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Hg}^{2+}$ 处理组中达到最大值, 随后随着水体 Hg^{2+} 浓度的升高而下降; GOT 在这两个较低的浓度组保持相对稳定的酶比活性, 在更高的 0.20 和 $0.30 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Hg}^{2+}$ 处理组中达到峰值。GPT 绝大部分位于细胞浆中, 而 GOT 则主要位于线粒体, 少部分位于细胞浆中^[13], 在 0.01 和 $0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Hg}^{2+}$ 处理组中, 虽然肝胰腺等器官细胞受到胁迫, 通透性增加^[14], GPT 大量外泄, 释放到血淋巴中, 导致血淋巴 GPT 活性显著升高; 但细

胞内的大部分细胞器保持完整,使得大部分 GOT 酶仍保全于细胞线粒体上,从而使血淋巴中 GOT 活性基本保持稳定,而在 0.20 和 $0.30 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{Hg}^{2+}$ 处理组中,肝胰腺等器官细胞受到重创,线粒体、内质网等细胞器也受到严重损伤,整个细胞空泡化^[15],导致 GOT 大量外泄,血淋巴 GOT 活性持续升高。与汞暴露类似,重金属镉同样能够通过破坏中华绒螯蟹肝胰腺中主要起主动吸收作用的 R 细胞膜系统受损,导致细胞中谷丙转氨酶外泄至血淋巴中^[16]。

AKP 是一种含锌(Zn^{2+})的金属酶^[17],主要分布于细胞质膜之上^[18],不仅能够催化磷酸单酯水解,还直接参与磷酸基团的转移,是动物体内重要的解毒酶,并且在动物机体的骨化过程及在磷化物和其营养物质消化、吸收和转运过程中起到重要作用^[19]。甲壳动物相关研究中已经把 AKP 看作是一种具有免疫功能,可用来检测甲壳动物免疫功能的指标酶^[8, 20]。 Hg^{2+} 较低浓度组,中华绒螯蟹血淋巴和肝胰腺 AKP 活性上升,可能是水环境中的汞刺激条件下,中华绒螯蟹产生一系列应答反应,保持较高的代谢能力、减少其对自身的伤害,体现出一种“毒物兴奋效应”^[21]。此外,Latif^[22] 根据实验证明 AKP 活性与罗氏沼虾蜕皮过程中钙沉积和吸收钙的速率有关,因此本研究不排除 0.01 和 $0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{Hg}^{2+}$ 浓度组中华绒螯蟹血淋巴和肝胰腺 AKP 活性上升是由于中华绒螯蟹蜕皮导致的波动。高浓度组中, Hg^{2+} 不能彻底与金属硫蛋白等解毒物质结合,多余的 Hg^{2+} 通过与巯基、氨基、羧基和磷酸基等基团相结合,取代 AKP 活性基团 Zn^{2+} ,改变酶的构象,从而降低酶的活性^[23]。

ACP 是一种磷酸酯酶,存在于动物细胞溶酶体及内质网和胞浆基质中,除了参与磷酸酯的代谢外,还是一种可诱导的“保护性”体液因子,这些酶可被外源物质诱导^[24],参与代谢调节和能量转换等生命活动,开启自身反应应激机制从而适应环境发生变化^[25]。较低浓度的 Hg^{2+} 暴露下,组织内汞离子被新合成的金属硫蛋白等物质结合,降低了毒性,磷酸化反应旺盛,诱导肝胰腺和血淋巴 ACP 活性增加,导致 $0.01 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{Hg}^{2+}$ 处理组 ACP 酶活性达到最高,以此应对汞污染压力。然而,诱导总是有限度的,随着水环境中的 Hg^{2+} 浓度持续增高,超过机体本身的应对能力,富集于机体内多余的 Hg^{2+} 可以与 ACP 酶上巯基相互结合,改变酶的构象,从而降低酶活性^[26]。此外, Hg^{2+} 浓度较高的处理组,中华绒

螯蟹的各组织结构受到破坏性影响^[27],尤其是肝胰腺线粒体和内质网等进行蛋白质合成的亚细胞结构更容易成为其影响的靶器官^[28],导致 ACP 的合成能力下降。

生物标志物(biomarker)是生物体受到严重损害之前,在分子、细胞、个体或种群水平上因受环境污染物影响而产生异常变化的信号指标^[29]。本研究结果显示,中华绒螯蟹肝胰腺和血淋巴中 GPT、GOT、AKP 和 ACP 4 种酶对水环境中的 Hg^{2+} 胁迫较为灵敏,即使在本研究设置的最低浓度组 $0.01 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{Hg}^{2+}$ 处理组,肝胰腺和血淋巴两种组织中 4 种酶活性即开始发生变化,表明机体通过调动体内 AKP 和 ACP 活性等反应,适应环境胁迫,然而,肝胰腺等组织细胞仍然受到影响,导致细胞内的 GPT 和 GOT 外泄至血淋巴。因此,可以通过比较不同组织的 4 种酶活性,确定中华绒螯蟹对水环境不利因素的适应状况。本研究结果,不仅丰富了 Hg^{2+} 对甲壳动物毒理学研究内容,而且为水产养殖中采用 4 种酶作为生物标志物开展重金属污染监测提供借鉴。

通讯作者简介:秦延文(1973—),女,环境科学博士,研究员,主要研究方向为环境化学及污染生物化学,发表学术论文 30 余篇。

参考文献:

- [1] 冯新斌,汤顺林,李仲根,等. 生活垃圾填埋场是大气汞的重要来源[J]. 科学通报,2004,49(23): 67-71
Feng X B, Tang S L, Li Z G, et al. Landfill site is an important source of atmosphere mercury [J]. Chinese Science Bulletin, 2004, 49(23): 67-71 (in Chinese)
- [2] 牟文,熊丽,胡芹芹,等. HgCl_2 对斜生栅藻 (*Scenedesmus obliquus*) 生理生化特性的影响[J]. 生态毒理学报,2009,4(6): 854-859
Mu W, Xiong L, Hu Q Q, et al. Effects of HgCl_2 on physiological and biochemical characteristics of *Scenedesmus obliquus* [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2009, 4(6): 854-859 (in Chinese)
- [3] Ebdon L, Pitts L, Cornelis R, et al. Trace Element Speciation for Environment, Food and Health [M]. Royal Society of Chemistry, 2001, 235-236
- [4] 高淑英,邹栋梁. 铜、汞和铬对长毛对虾幼体的急性毒性[J]. 海洋通报,1994,13(2): 28-32
Gao S Y, Zou D L. Acute toxicity of copper, mercury and chromium to larvae of *Penaeus penicillatus* Alcock [J].

- Marine Science Bulletin, 1994, 13(2): 28–32 (in Chinese)
- [5] 赵艳民, 王新华, 于洋, 等. 氯化汞对中华绒螯蟹幼蟹蜕皮、生长和存活的影响[J]. 南开大学学报(自然科学版), 2009, 42(3): 53–58
- Zhao Y M, Wang X H, Yu Y, et al. 2009, Effect of mercury chloride for survival, growth and molt of juvenile of the Chinese mitten crab, *Eriocheir sinensis* [J]. Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Nankaiensis, 2009, 42(3): 53–59
- [6] 任加云, 潘鲁青, 姜令绪. 3种重金属离子对中华绒螯蟹鳃丝 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 活性的影响[J]. 中国水产科学, 2004, 11(4): 291–295
- Ren J Y, Pan L Q, Jiang L X. Effects of three heavy metal ions on $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ activity in gills of crab *Eriocheir sinensis* [J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2004, 11(4): 291–295 (in Chinese)
- [7] 潘鲁青, 吴众望, 张红霞. 重金属离子对凡纳滨对虾组织转氨酶活性的影响[J]. 中国海洋大学学报, 2005, 35(2): 195–198
- Pan L Q, Wu Z W, Zhang H X. Effects of heavy metal I-ions on transaminases activities of *Litopenaeus vannamei* [J]. Periodical of Ocean University of China, 2005, 35(2): 195–198 (in Chinese)
- [8] 孔祥会, 刘占才, 郭彦玲, 等. 汞暴露对草鱼器官组织中碱性磷酸酶活性的影响[J]. 中国水产科学, 2007, 14(2): 270–274
- Kong X H, Liu Z C, Guo Y L, et al. Effects of Hg^{2+} on alkaline phosphatase activity in different organs and tissues of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) [J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2007, 14(2): 270–274 (in Chinese)
- [9] 何海琪, 孙凤. 中国对虾酸性和碱性磷酸酶的特性研究[J]. 海洋与湖沼, 1992, 23(5): 555–560
- He H Q, Sun F. Studies on the characteristics of acid and alkaline phosphatases in Chinese shrimp, *Penaeus chinensis* [J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 1992, 23(5): 555–560 (in Chinese)
- [10] 王丙莲, 张迎梅, 侯亚妮, 等. 镉、铅对泥鳅组织转氨酶活性的影响[J]. 兰州大学学报(自然科学版), 2006, 42(3): 67–70
- Wang B L, Zhang Y M, Hou Y N, et al. Effects of cadmium and lead on transaminase activities in tissues of *Misgurnus anguillicaudatus* [J]. Journal of Lanzhou University (Natural Sciences), 2006, 42(3): 67–70 (in Chinese)
- [11] 赵乃刚, 堵南山, 包祥生, 等. 河蟹的人工繁殖与增养殖[M]. 合肥: 安徽科学技术出版社, 1988: 6–9
- Zhao N G, Du N S, Bao X S, et al. Artificial breeding, propagation and culture of Chinese mitten crab [M]. Hefei: Anhui Science and Technology Press, 1988: 6–9 (in Chinese)
- [12] 赵维信, 魏华, 贾江, 等. 镉对罗氏沼虾组织转氨酶活性及组织结构的影响[J]. 水产学报, 1995, 19(1): 21–27
- Zhao W X, Wei H, Jia J, et al. Effects of cadmium on transaminase activities and structures of tissues in freshwater giant prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) [J]. Journal of Fisheries of China, 1995, 19(1): 21–27 (in Chinese)
- [13] 李赞, 汝少国. 久效磷对金鱼肝脏和血浆谷丙、谷草转氨酶活性的影响[J]. 安全与环境学报, 2008, 8(5): 9–12
- Li Y, Ru S G. Effects of monocrotophos on GPT and GOT activities in the goldfish (*Carassius auratus*) liver and serum [J]. Journal of Safety and Environment, 2008, 8(5): 9–12 (in Chinese)
- [14] Franchet C. Mercury chloride induces changes in the Mg^{2+} stimulated membrane currents in oocytes of the prawn *Palaeomonetes serratus* [J]. Aquatic Toxicology, 1999, 47(1): 1–8
- [15] Zhao Y M, Wang X H, Qin Y W, et al. Mercury (Hg^{2+}) effect on enzyme activities and hepatopancreas histopathologies of juvenile Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis* [J]. Chinese Journal of Oceanology and Limnology, 2010, 28(3): 427–434
- [16] 卢敬立, 赖伟, 堵南山. 镉对中华绒螯蟹 R-细胞亚显微结构及血清骨病转氨酶(SGPT)活性的影响[J]. 青岛海洋大学学报, 1989, 19(2): 61–68
- Lu J R, Lai W, Du N S. Effect of cadmium on ultrastructure of R-cell in hepatopancreas and serum glutamicpyruvic transaminases (SGPT) activity of *Eriocheir sinensis* [J]. Journal of Ocean University of Qing Dao, 1989, 19(2): 61–67 (in Chinese)
- [17] Lippard S J, Berg J M. 生物无机化学原理[M]. 席振峰, 姚光庆, 项斯芬, 等译. 北京: 北京大学出版社, 2000, 6–7
- Lippard S J, Berg J M. Principle of Bioinorganic Chemistry [M]. Trans. Xi Z F, Yao G Q, Xiang S F, et al. Beijing: Peking University Press, 2000: 6–7 (in Chinese)
- [18] 孙虎山, 李光友. 栉孔扇贝血淋巴中 ACP 和 AKP 活性及其电镜细胞化学研究[J]. 中国水产科学, 1999, 1(4): 54–57
- Sun H S, Li G Y. The activities and their electron microscopic cytochemistry study of AKP and ACP in haemolymph of *Chlamys farreri* [J]. Journal of Fishery Science of China, 1999, 6(4): 6–9 (in Chinese)
- [19] 孙静秋, 许燕, 张慧绮, 等. 凡纳对虾体内 ACP、AKP 酶的细胞化学定位[J]. 复旦大学学报(自然科学版),

- 2007, 46(6): 947–951
- Sun J Q, Xu Y, Zhang H Q, et al. Study on cytochemical location of acid phosphatase and alkaline phosphatase of *Litopenaeus vannamei* [J]. Journal of Fudan University (Natural Science), 2007, 46(6): 947–951 (in Chinese)
- [20] 何南海. 对虾免疫功能指标的建立及其应用[J]. 厦门大学学报(自然科学版), 2004, 43(3): 385–388
- He N H. The establishment and application of immune indexes of Penaeid shrimp [J]. Journal of Xiamen University (Natural Science), 2004, 43(3): 385–389 (in Chinese)
- [21] Stebbing A R D. Hormesis the stimulation of growth by low levels of the inhibitors [J]. Science of the Total Environment, 1982, 22(1): 213–234
- [22] Latif M A. A study of the effects of alkalinity and hardness on postlarvae and juvenile of the giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* (de Man) [D]. UK: Institute of Aquaculture, University of Stirling, 1992: 5–11
- [23] 陈清西, 陈素丽, 石艳, 等. 长毛对虾碱性磷酸酶性质[J]. 厦门大学学报(自然科学版), 1996, 35(2): 257–261
- Chen Q X, Chen S L, Shi Y, et al. Characterization of alkaline phosphatase from *Penaeus penicillatus* [J]. Journal of Xiamen University (Natural Science), 1996, 35(2): 257–261 (in Chinese)
- [24] 牟海津, 江晓路, 刘树青, 等. 免疫多糖对栉孔扇贝酸性磷酸酶、碱性磷酸酶和超氧化物歧化酶活性的影响[J]. 青岛海洋大学学报, 1999, 29(3): 463–468
- Mu H J, Jiang X L, Liu S Q, et al. Effects of immunopolysaccharide on the activities of acid phosphatase, alkaline phosphatase and superoxide dismutase in *Chlamys farreri* [J]. Journal of Ocean University of Qing Dao, 1999, 29(3): 463–468 (in Chinese)
- [25] 杜启艳, 王萍, 王友利, 等. 长期饥饿和再投喂对泥鳅不同组织糖元、酸性磷酸酶和碱性磷酸酶的影响[J]. 江西师范大学学报(自然科学版), 2008, 32(4): 488–493
- Du Q Y, Wang P, Wang Y L, et al. Effects of long term starvation and refeeding on glycogen, acid phosphatase and alkaline phosphatase in different tissues of *Misgurnus anguillicadatus* [J]. Journal of Jiangxi Normal University (Natural Science), 2008, 32(4): 488–493 (in Chinese)
- [26] 徐冬梅, 刘广深, 王黎明, 等. 重金属汞对土壤酸性磷酸酶的影响及其机理[J]. 环境科学学报, 2004, 24(5): 865–870
- Xu D M, Liu G S, Wang L M, et al. Studies on the effects and corresponding mechanism of Hg^{2+} on the activity of soil acid phosphatase [J]. Acta Science Circumstantiae, 2004, 24(5): 865–870 (in Chinese)
- [27] 赵艳民, 王新华, 孙慧. Hg^{2+} 在中华绒螯蟹幼蟹鳃内的积累及其对组织结构的影响[J]. 动物学杂志, 2008, 43(1): 1–7
- Zhao Y M, Wang X H, Sun H. Accumulation of water-borne mercury in gills of juvenile *Eriocheir sinensis* and its effect on gills structure [J]. Chinese Journal of Zoology, 2008, 43(1): 1–7 (in Chinese)
- [28] Andersen J T, Baatrup E. Ultrastructural localization of mercury accumulations in the gills, hepatopancreas, midgut, and antennal glands of the brown shrimp, *Crangon crangon* [J]. Aquatic Toxicology, 1988, 13(4): 309–324
- [29] 何桢, 牟文, 周巧巧, 等. $HgCl_2$ 对斑马鱼 SOD, AchE 酶活性和基因相对转录量的影响[J]. 生态毒理学报, 2011, 6(6): 649–654
- He Z, Mu W, Zhou Q Q, et al. Toxic effects of $HgCl_2$ on SOD and AchE of activities and gene transcription of zebrafish [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 6(6): 649–654 (in Chinese) ◆