

敌百虫胁迫对克氏原螯虾免疫学相关指标的影响

钟君伟, 朱永安, 孟庆磊, 张龙岗, 安 丽

(山东省淡水渔业研究院, 山东省淡水水产遗传育种重点实验室, 济南 250013)

摘要:在不同质量浓度(0、0.132、0.264、0.528 mg/L)敌百虫胁迫条件下,研究克氏原螯虾(*Procambarus clarkii*)肝胰腺 T-SOD、CAT、ACP、AKP 及肌肉 Na^+ 、 K^+ -ATPase、TChE 的活性变化。结果表明,敌百虫对各免疫因子影响各异;0.132 mg/L 和 0.528 mg/L 浓度组克氏原螯虾的肝胰腺 T-SOD 活性分别于药浴 4 d 和 1 d 时显著高于对照组($P < 0.05$);0.132 mg/L 和 0.264 mg/L 浓度组克氏原螯虾的 CAT 活性于药浴 2 d 后显著高于对照组($P < 0.05$);12 d 内各浓度组 ACP 及 AKP 活性随药浴时间的延长而一直低于对照组,其中 ACP 在 4 d 内逐渐降低;肌肉 TChE 在 0.132 mg/L 和 0.264 mg/L 浓度组中分别于药浴 1 d 和 4 d 后活性显著高于对照组($P < 0.05$);而 Na^+ 、 K^+ -ATPase 只有 0.528 mg/L 浓度组在 2 d 内活性显著高于对照组($P < 0.05$),其余各组未出现诱导现象;试验组各免疫因子活性在药浴 12 d 时均显著低于对照组($P < 0.05$);表明敌百虫胁迫并非仅仅作用于 TChE, 其对克氏原螯虾机体 T-SOD、CAT、ACP、AKP 及 Na^+ 、 K^+ -ATPase 均有影响,12 d 后各免疫因子活性均难以恢复至对照水平。

关键词:克氏原螯虾;敌百虫;胁迫;免疫因子

中图分类号:Q355 **文献标志码:**A **文章编号:**1674-3075(2014)02-0095-06

克氏原螯虾(*Procambarus clarkii*)俗称淡水小龙虾,分类学上属节肢动物门、甲壳纲、软甲亚纲、十足目、螯虾亚目、蜊蛄科、原螯虾属,原产于北美洲,20 世纪 30 年代末由日本传入我国,由于其繁殖能力极强,能适应稻田、池塘、滩地等多种水域环境,已成为我国重要的水产经济虾类,是目前水产业中发展最为迅速、最具特色的养殖品种之一。

敌百虫(trichlorfon)作为有机磷酸脂类化合物,是一种高效低毒低残留的有效杀虫剂,在鱼病防治中代替了有机氯农药“六六六”等,用于防治鱼体内外寄生的吸虫、线虫、棘头虫及危害鱼苗、鱼卵的枝角类、桡角类、蚌钩介幼虫和水蜈蚣等病害,也可用于控制淡水中的浮游动物。目前,敌百虫对水生生物的影响较多地集中在鱼类研究方面(李爱景等,2009;沈美芳等,2009;徐维娜,2009),而对克氏原螯虾的相关报道较少,仅见其对敌百虫的急性毒性研究(沈美芳等,2008),未涉及敌百虫对其非特异性免疫因子的影响。本试验在沈美芳等(2008)研究结果基础上,以不同浓度敌百虫药浴克氏原螯虾,观察其肝胰腺中过氧化氢酶(CAT)、总超氧化物歧化

酶(T-SOD)、酸性磷酸酶(ACP)、碱性磷酸酶(AKP)以及肌肉 Na^+ 、 K^+ -ATPase 和乙酰胆碱酯酶(TChE)活性的变化,旨在进一步探究克氏原螯虾受到敌百虫胁迫后相关免疫因子的变化。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验用克氏原螯虾体重为(21.64 ± 0.57) g,取自山东省东平县第一淡水养殖试验场,在室内暂养 7 d。暂养和试验容器均为装有 20 L 水的塑料水族箱($57 \text{ cm} \times 40 \text{ cm} \times 34 \text{ cm}$);试验前 24 h 停食,并从中选择体质健壮、体色一致、活动性强和附肢完整的成虾作为试验用虾。

试验在山东省淡水水产研究所国家级水产良种场温室中进行,水源为玉景矿泉水厂 700 m 深井水,水温(24.9 ± 2.7) $^{\circ}\text{C}$, pH 7.86, DO (5.24 ± 0.63) mg/L, TDS (0.44 ± 0.05) mg/L; NH_4^+ -N 0.04 mg/L; NO_2^- -N 未检出。24 h 连续充气增氧,试验期间不控温,根据需要进行适量投喂。

1.2 试验方法

根据安全浓度(沈美芳等,2008)和生产中常用浓度(杨先乐,2005),设置 0.132、0.264、0.528 mg/L 共 3 个敌百虫浓度组和 1 个对照组(0 mg/L)。根据设定的质量浓度,准确称量含量为 90% 的晶体敌百虫,放入装有 20 L 水的塑料水族箱溶解完全后,每个试验组随机放入活力旺盛的克氏

收稿日期:2013-11-19

基金项目:山东省科技发展计划项目(2010GCG20901);山东省海洋与渔业厅科技计划项目。

通讯作者:朱永安。E-mail: zhu Yongan1965@163.com

作者简介:钟君伟,1984 年生,男,助理研究员,主要从事水产动物病原学与免疫学研究。E-mail: yemaoshuanqi@gmail.com

原螯虾 20 只,每平行重复 2 组。每 24 h 更换试验溶液 1 次以维持药物浓度。

1.3 样品处理

于药浴后 1、2、4、12 d 分别从每处理组随机取出 3 只虾,在冰上迅速采集腹部肌肉及肝胰腺组织样品,分别加 9 倍质量 0.86% 预冷无菌生理盐水制备成 10% 的组织匀浆,匀浆过程在冰浴条件下进行。匀浆液经 3 000 r/min、4℃ 离心 15 min,吸取上清液于洁净的离心管中 -20℃ 保存备用,并于 24 h 测试完毕。

1.4 指标检测

使用南京建成生物技术有限公司生产的试剂盒测定 CAT、T-SOD、ACP、AKP、Na⁺, K⁺-ATPase、TChE 活性和总蛋白含量,按说明书进行操作,每个样品重复 2 次。T-SOD 定义为每 1 mg 组织蛋白在 1 mL 反应液中,SOD 抑制率达 50% 时所对应的量为 1 个 SOD 活性单位(U/mg);组织中 CAT 以 1 mg 蛋白 1 s 分解 1 μmol H₂O₂ 的量为 1 个活性单位(U/mg);ACP 定义为每 1 g 组织蛋白在 37℃ 与基质作用 30 min 产生 1 mg 酚为 1 个活性单位(U/g);AKP 定义为每 1 g 组织蛋白在 37℃ 与基质作用 15 min 产生 1 mg 酚为 1 个活性单位(U/g);Na⁺, K⁺-ATPase 定义为每 1 h 每 1 mg 组织蛋白的组织中 ATP 酶分解产生 1 μmol 无机磷为 1 个 ATP 酶活性单位[μmol/(mg·h)];TChE 活性定义为每 1 mg 组织蛋白在 37℃ 保温 6 min,水解反应体系中 1 μmol 基质为 1 个活性单位(U/mg);考马斯亮蓝显色法测定总蛋白含量(g/L)。

1.5 数据处理

试验数据采用 SPSS19.0 软件处理,并用 ANOVA 方差分析和 Duncan's 多重比较进行组间平均值

的差异显著性检验,试验结果数据取平均数 ± 标准差(M ± SD),以 P ≤ 0.05 作为差异显著标准。

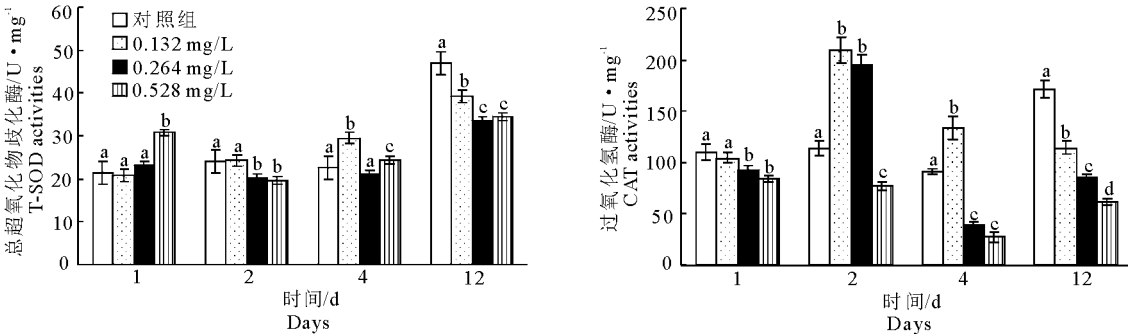
2 结果与分析

2.1 毒性症状

试验发现,在敌百虫高浓度组(0.528 mg/L),第 6 天受试虾摄食能力差,尝试少量投喂饵料时需直接投于其上方,落下触动虾体时才勉强摄食,至第 10~11 天基本不进食;其部分个体反应愈显迟钝僵硬,游泳能力差,常聚于气头附近,且游动缓慢,螯足变得无力,易出现脱落。试验结束时高浓度暴露组共计死亡 6 尾,平均死亡率为 15%;而对照组和低浓度暴露组的虾游泳正常,主动摄食能力较强,试验中未出现死亡。

2.2 抗氧化酶活性

水体中敌百虫胁迫对克氏原螯虾亲虾肝胰腺抗氧化酶类活性随时间变化见图 1。可以看出,各时间点试验组与对照组 T-SOD 活性均有差异。经敌百虫药浴 1 d 后,0.528 mg/L 浓度组 T-SOD 活性明显升高,较对照组和 0.132 mg/L 和 0.264 mg/L 浓度组差异显著(P < 0.05);0.132、0.264 mg/L 浓度组与对照组相比,T-SOD 活性无明显差异(P > 0.05);第 2 天,0.264 mg/L 和 0.528 mg/L 浓度组 T-SOD 活性明显受到抑制,二者之间无明显差异(P > 0.05),但与 0.132 mg/L 及对照组差异显著(P < 0.05),0.132 mg/L 浓度组与对照组相比 T-SOD 活性无明显变化(P > 0.05);第 4 天,与对照组相比,0.132 mg/L 浓度组 T-SOD 活性上升了 31.23% (P < 0.05),其他各浓度组间 T-SOD 活性无明显变化(P > 0.05);第 12 天,对照组 T-SOD 活性明显升高,试验组 T-SOD 活性虽较前期有所升高,



(柱形图上标不同小写字母表示差异显著, P < 0.05; 相同小写字母表示差异不显著, P > 0.05; n = 3)

图 1 敌百虫胁迫对克氏原螯虾抗氧化酶活性的影响

(Bars with different small letters mean significant differences, P < 0.05; the same small letters mean no significant differences, P > 0.05; n = 3)

Fig. 1 Effects of trichlorophon on T-SOD and CAT activities in hepatopancreas of Procambarus clarkii

但仍分别较对照组下降16.51%、28.48%和26.70% ($P<0.05$)。

在肝胰腺 CAT 活性方面,经敌百虫药浴 1 d 后,0.264 mg/L 和 0.528 mg/L 浓度组 CAT 活性差异不显著 ($P>0.05$),但较0.132 mg/L浓度组和对照组明显受到抑制 ($P<0.05$);第 2 天,0.132 mg/L 和 0.264 mg/L 浓度组与对照组相比,CAT 活性分别上升 84.54% 和 72.25% ($P<0.05$),也明显高于 0.528 mg/L浓度组 ($P<0.05$);第 4 天,0.132 mg/L 浓度组与对照组相比 CAT 活性仍高 46.77%,0.264 mg/L和0.528 mg/L浓度组 CAT 活性明显受到抑制 ($P<0.05$);第 12 天,与对照组相比,0.132、0.264 和 0.528 mg/L 浓度组 CAT 活性分别下降 33.21%、49.85% 和 64.05% ($P<0.05$);且敌百虫浓度越高,CAT 活性下降越明显 ($P<0.05$)。在整个试验过程中,0.528 mg/L 浓度组 CAT 活性均明显低于对照组和其他低浓度组 ($P<0.05$)。

以上试验表明,长期处于饥饿状态的克氏原螯虾 T-SOD 和 CAT 活性在复投喂(第 10~11 天)条件下能够顺利激活,以应对饥饿胁迫,高浓度敌百虫对 CAT 活性的抑制程度更强,而低浓度对其诱导效果较 T-SOD 明显;12 d 后,经敌百虫药浴后的克氏原螯虾 T-SOD 和 CAT 活性难以恢复到对照组水平。

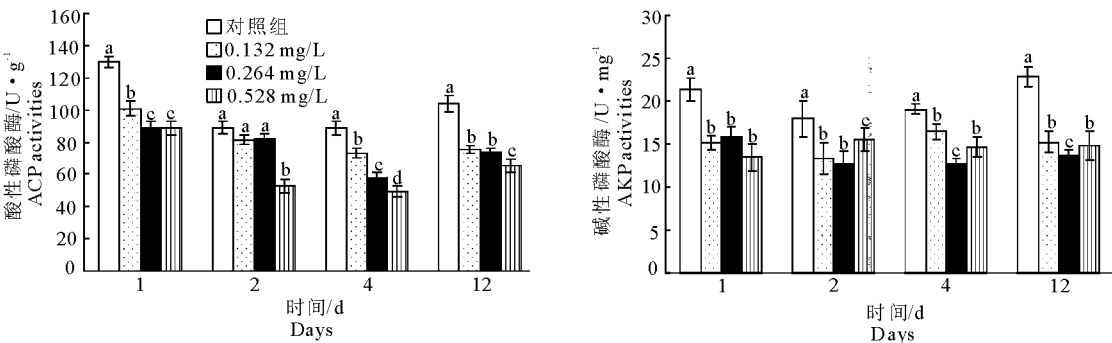
2.3 酸、碱磷酸酶活性

敌百虫胁迫对克氏原螯虾酸、碱磷酸酶活性的影响见图 2。试验组敌百虫胁迫 12 d 内肝胰腺 ACP 和 AKP 活性与对照组相比均显著降低 ($P<0.05$)。各试验组肝胰腺 ACP 活性在第 4 天时降到最低,其中对照组肝胰腺 ACP 活性为 (88.67 ± 4.16) U/g,

试验组比对照组分别降低 17.38%、39.63% 和 44.44% ($P<0.05$),且相互间差异显著 ($P<0.05$),4 d 内各试验组 AKP 活性逐渐降低;第 12 天,对照组肝胰腺 AKP 活性达到 (103.55 ± 5.94) U/g,而试验组与对照组相比,分别降低 27.10%、33.45% 和 37.24% ($P<0.05$)。敌百虫药浴 1 d 后,试验组肝胰腺 AKP 活性即分别下降 28.81%、25.96% 和 36.90% ($P<0.05$);此后试验组肝胰腺 AKP 活性抑制受到抑制,而对照组肝胰腺 AKP 活性在第 12 天可以恢复至 (22.83 ± 1.32) U/mg。以上结果说明,敌百虫药浴后肝胰腺 ACP 和 AKP 活性均受到抑制,未有被激活现象发生,且未观察到剂量依赖效应。

2.4 乙酰胆碱酯酶及 $\text{Na}^+,\text{K}^+-\text{ATPase}$ 活性

敌百虫胁迫对克氏原螯虾乙酰胆碱酯酶及 $\text{Na}^+,\text{K}^+-\text{ATPase}$ 活性的影响见图 3。第 1 天,0.132 mg/L 浓度组肌肉 TChE 活性迅速升高至 (0.69 ± 0.05) U/mg,高出对照组 76.72%,其诱导作用达到显著水平 ($P<0.05$),而其余各试验组及对照组之间差异不显著 ($P>0.05$);药浴 2 d 后,0.264 mg/L 浓度组肌肉 TChE 活性显著下降 ($P<0.05$),0.132 mg/L 和 0.528 mg/L 浓度组与对照组相比无显著差异 ($P>0.05$);第 4 天,0.264 mg/L 浓度组肌肉 TChE 活性逐渐上升达到 (0.38 ± 0.02) U/mg,较对照组高出 41.15% ($P<0.05$),其余各浓度组肌肉 TChE 活性显著降低 ($P<0.05$);第 12 天,对照组肌肉 TChE 活性较第 4 天上升 16.56%,而各浓度组均受到显著抑制 ($P<0.05$)。

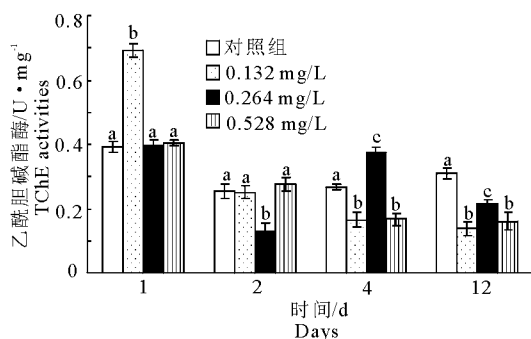


(柱形图上标不同小写字母表示差异显著, $P<0.05$; 相同小写字母表示差异不显著, $P>0.05$; $n=3$)

图2 敌百虫胁迫对克氏原螯虾酸、碱磷酸酶活性的影响

(Bars with different small letters mean significant differences, $P<0.05$; the same small letters mean no significant differences, $P>0.05$; $n=3$)

Fig.2 Effects of trichlorfon on ACP and AKP activities in hepatopancreas of *Procambarus clarkia*



(柱形图上标不同小写字母表示差异显著, $P < 0.05$; 相同小写字母表示差异不显著, $P > 0.05$; $n = 3$)

图3 敌百虫胁迫对克氏原螯虾乙酰胆碱酯酶及 Na^+, K^+ -ATPase 活性的影响

(Bars with different small letters mean significant differences, $P < 0.05$; the same small letters mean no significant differences, $P > 0.05$; $n = 3$)

Fig. 3 Effects of trichlorfon on TChE and Na^+, K^+ -ATPase activities in muscle of *Procambarus clarkii*

从图3可以看出,敌百虫药浴2 d后,0.132 mg/L浓度组与对照组肌肉 Na^+, K^+ -ATPase 活性无明显变化($P > 0.05$),0.264 mg/L浓度组在第2天显著降低($P < 0.05$),而0.528 mg/L浓度组肌肉 Na^+, K^+ -ATPase 活性逐渐上升,分别较对照组高出62.24%和128.22% ($P < 0.05$);在第4天和第12天各浓度组肌肉 Na^+, K^+ -ATPase 活性均低于对照组($P < 0.05$)。

从整个试验过程看,一定浓度敌百虫在初期会诱导肌肉 TChE 和 Na^+, K^+ -ATPase 活性水平的提高,但诱导作用强弱与敌百虫浓度之间并无明显规律。随着敌百虫作用时间的增加,肌肉 TChE 和 Na^+, K^+ -ATPase 活性均会受到明显抑制。

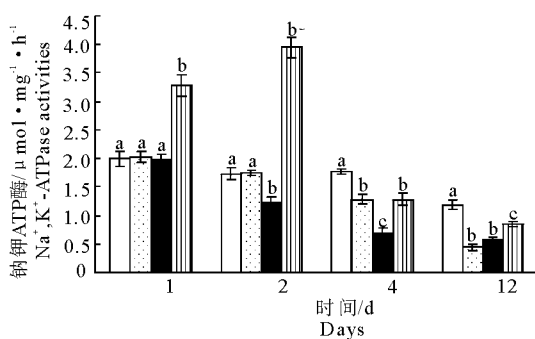
3 讨论

3.1 敌百虫胁迫对克氏原螯虾的毒副作用

敌百虫是水产养殖中广泛应用的一种有机磷杀虫剂,在杀灭寄生虫的同时,也能对水体中的鱼类产生毒副作用(Yeh et al, 2005; Chang et al, 2006; Guimarães et al, 2007; Hong et al, 2007),特别是敌百虫水解后成为胆碱酯酶的抑制剂,使其失去分解乙酰胆碱的活性,从而使昆虫、甲壳类、蠕虫等动物的神经系统功能紊乱而死亡。因此,在淡水养殖中,敌百虫的应用会对克氏原螯虾产生较强的毒副作用。沈美芳等(2008)的研究表明,体重(20.70 ± 1.07) g的克氏原螯虾安全浓度为0.264 mg/L,超出用量将会导致其生长异常甚至死亡。本试验结果表明,在敌百虫安全浓度内克氏原螯虾无死亡现象,而0.528 mg/L的浓度胁迫下克氏原螯虾出现中毒症状,试验结束时死亡率达到15%。

3.2 敌百虫胁迫对克氏原螯虾免疫指标的影响

3.2.1 肝胰腺抗氧化酶活性 CAT 参与活性氧代



谢,可以使 H_2O_2 发生歧化生成水和氧,与 SOD、过氧化物酶(POD)等共同组成了生物体内的活性氧防御系统,在清除超氧自由基、 H_2O_2 和过氧化物以及阻止或减少羟基自由基形成等方面发挥重要作用,是虾蟹类重要的免疫因子(吴坚,1991;何南海,2004;肖克宇,2007)。

第1天,0.528 mg/L组的肝胰腺 T-SOD 活性明显上升;第2天,0.132 mg/L 和 0.264 mg/L 组的肝胰腺 CAT 活性明显上升,说明克氏原螯虾机体在短时间内可以通过提高 CAT 活性应对低浓度敌百虫胁迫;而高浓度敌百虫在第1天内能够显著激活 T-SOD 活性,随后一直受到抑制,可能是由于长期受到高浓度敌百虫胁迫,活性氧产生超出了 T-SOD 清除能力,发生氧化损伤;第12天,各试验组 T-SOD 和 CAT 活性均难以达到对照组水平,导致其清除自由基的能力下降。可以看出,在短时间内低于安全浓度的敌百虫并不能完全抑制肝胰腺 T-SOD 和 CAT 活性,而超出安全浓度的敌百虫反而会更快地激发肝胰腺 T-SOD 活性;但随着胁迫时间的延长,肝胰腺 T-SOD 和 CAT 活性均受到抑制,但并未表现出剂量依赖效应。这一点与溴氰菊酯对克氏原螯虾的氧化胁迫相似(魏华等,2010)。

3.2.2 肝胰腺酸、碱磷酸酶活性 AKP 和 ACP 是甲壳动物体内2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。AKP 酶对钙质的吸收、磷酸钙沉积、骨骼形成、甲壳素分泌及形成均有重要作用,该酶对虾、蟹类的生存和生长有特别重要的意义(颜思旭等,1996)。ACP 是巨噬细胞溶酶体的标志酶,能催化磷酸单酯水解,在酸性条件下作用于磷酸苯二钠,使之水解释放出酚和磷酸,在体内直接参与磷酸基团的转移和代谢(李少菁等,2008)。

本试验中,敌百虫胁迫下,克氏原螯虾肝胰腺

AKP 和 ACP 活性均明显低于对照组,且 ACP 活性远远高于 AKP,未观察到 AKP 和 ACP 诱导激活现象,这与 Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 单独胁迫对拟穴青蟹 (*Scylla paramamosain*) AKP 和 ACP 存在激活现象完全不同(陈宇锋,2008);而与氯氰菊酯和吡虫啉对克氏原螯虾肝胰腺 AKP 和 ACP 影响相同(黄婷,2008)。说明敌百虫胁迫能够破坏肝胰腺酸碱平衡,抑制克氏原螯虾肝胰腺 AKP 和 ACP 活性,导致代谢紊乱,损伤邻近组织细胞,大大降低其抗病能性。

3.2.3 肌肉乙酰胆碱酯酶及 Na^+ 、 K^+ -ATPase 活性 乙酰胆碱酯酶(TChE)在完成神经冲动传导作用后,迅速将乙酰胆碱水解为乙酸和胆碱,保持神经冲动的正常传递。 Na^+ 、 K^+ -ATPase 是一类膜结合酶,其在渗透调节、物质运输、能量转换以及信息传递等方面发挥重要作用(Lucu & Towle, 2003)。对水生动物 Na^+ 、 K^+ -ATPase 的研究主要集中在的温度、盐度、pH 值等条件的变化上,而关于药物对甲壳动物 Na^+ 、 K^+ -ATPase 的研究报道并不多见(黄婷,2008)。

本试验第1天,0.132 mg/L 浓度组肌肉 TChE 活性显著被诱导激活,高出对照组 76.72%,第4天 0.264 mg/L 浓度组出现诱导现象,直至第12天各试验组肌肉 TChE 活性才显著低于对照组。虽然敌百虫作用靶为胆碱酯酶,能抑制其活性,造成体内胆碱的堆积,引起神经中毒,但本试验中短时间内低剂量的敌百虫对克氏原螯虾肌肉 TChE 毒害作用并不明显;这可能是由于机体内的对氧磷酶、磷酸酯酶等能水解部分磷酸化胆碱酯酶,故 TChE 活性抑制不明显。顾颖等(2005)研究表明,乙酰甲胺磷对 AChE 活性抑制率随着浓度增高先下降、后上升;黄婷(2008)研究发现,在氯氰菊酯和吡虫啉胁迫下,受试克氏原螯虾 TChE 活性变化随着氯氰菊酯浓度的升高呈现先上升、后下降的趋势,可见不同种类的有机磷农药对 TChE 活性影响存在差异。本次试验中,2 d 内高于安全浓度的敌百虫胁迫对肌肉 Na^+ 、 K^+ -ATPase 存在诱导激活现象,此后随着胁迫时间延长,其活性不断降低,但未观察到剂量依赖现象,说明敌百虫损害了其细胞膜功能,影响克氏原螯虾水盐代谢的调节以及能量的传递。

4 结论

机体应对外界环境因子(有机物、重金属、鱼药等)的强烈刺激是所有免疫因子共同发挥作用的结果,单个或少数免疫因子活性的变化不足以充分反

映免疫性的强弱。本次研究表明,敌百虫胁迫并非仅仅作用于 TChE,其对克氏原螯虾机体 T-SOD、CAT、ACP、AKP 及 Na^+ 、 K^+ -ATPase 均有影响,除肝胰腺 ACP 和 AKP 活性受到抑制外,其他各免疫学指标 4 d 内均出现诱导现象,但受诱导程度各不相同,12 d 后各免疫因子活性均难以恢复至正常水平。因此克氏原螯虾对敌百虫的胁迫反应是整个机体非特异性免疫因子共同参与的结果。

参考文献

- 陈宇锋. 2008. Cu^{2+} 或 Zn^{2+} 及 Cu^{2+} 与 Zn^{2+} 交互胁迫对拟穴青蟹 (*Scylla paramamosain*) 生理生化的影响[D]. 厦门: 厦门大学.
- 顾颖,王雨轩,王斌,等. 2005. 六种农药对乙酰胆碱酯酶活性的体外毒性效应[J]. 农村生态环境,21(2): 70 - 73.
- 何南海. 2004. 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,43(3): 385 - 388.
- 黄婷. 2008. 氯氰菊酯和吡虫啉对克氏原螯虾的毒性作用[D]. 南昌:南昌大学.
- 李爱景,李学军,乔志刚,等. 2009. 敌百虫和甲醛对淇河鲫仔鱼的急性毒性研究[J]. 安徽农业科学,37(22): 10525 - 10526.
- 李少菁,刘建国,艾春香. 2008. pH 胁迫下拟穴青蟹体内腺苷三磷酸酶和磷酸酶活性的响应[J]. 厦门大学学报:自然科学版,47(5): 743 - 747.
- 沈美芳,彭刚,薛晖,等. 2008. 三种杀虫剂对克氏原螯虾急性毒性研究[J]. 水产养殖,29(6): 16 - 18.
- 沈美芳,周璇,宋红波,等. 2009. 敌百虫在异育银鲫体内富集与消除规律[J]. 淡水渔业,39(1): 58 - 62.
- 魏华,吴楠,沈兹,等. 2010. 溴氰菊酯对克氏原螯虾的氧化胁迫效应[J]. 水产学报,34(5): 733 - 739.
- 吴坚. 1991. 微量金属对海洋生物的生物化学效应[J]. 海洋环境科学,10(2): 58 - 64.
- 肖克宇. 2007. 水产动物免疫与应用[M]. 北京:科学出版社:102 - 138.
- 徐维娜. 2009. 敌百虫对异育银鲫抗氧化应激系统的影响及抗坏血酸对鱼体的保护作用[D]. 南京:南京农业大学.
- 颜思旭,陈清西,陈素丽,等. 1996. 长毛对虾碱性磷酸酶性质[J]. 厦门大学学报:自然科学版,35(2): 257 - 261.
- 杨先乐. 2005. 新编渔药手册[M]. 北京:中国农业出版社:227 - 228.
- Chang C, Lee P, Liu C H, et al. 2006. Trichlorfon, an organophosphorus insecticide, depresses the immune responses and resistance to *Lactococcus garvieae* of the giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*[J]. Fish & Shellfish

- Immunology, 20(4): 574–585.
- Guimarães A, Silva De Assis H C, Boeger W. 2007. The effect of trichlorfon on acetylcholinesterase activity and histopathology of cultivated fish *Oreochromis niloticus* [J]. Ecotoxicology and Environmental safety, 68(1): 57–62.
- Hong X, Qu J, Chen J, et al. 2007. Effects of trichlorfon on progesterone production in cultured human granulosa-lutein cells [J]. Toxicology in Vitro, 21(5): 912–918.
- Lucu C, Towle D W. 2003. Na^+ , K^+ -ATPase in gills of aquatic crustacea [J]. Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol, 135(2): 195–214.
- Yeh S, Sung T, Chang C, et al. 2005. Effects of an organophosphorus insecticide, trichlorfon, on hematological parameters of the giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii* (de Man) [J]. Aquaculture, 243(1): 383–392.

(责任编辑 万月华)

Effects of the Stress of Trichlorphon on Some Immune Parameters of *Procambarus clarkii*

ZHONG Jun-wei, ZHU Yong-an, MENG Qing-lei, ZHANG Long-gang, AN Li

(Shandong Provincial Key Laboratory of Freshwater Genetics and Breeding, Freshwater Fisheries Research Institute of Shandong Province, Jinan 250013, P. R. China)

Abstract: To investigate the influence of trichlorphon stress on the immune parameters of *Procambarus clarkii*, *Procambarus clarkii* for the experiment were reared in the test solution of 0 mg/L, 0.132 mg/L, 0.264 mg/L and 0.528 mg/L trichlorphon for 12 days, respectively. The activities of four nonspecific immune parameters (T-SOD, CAT, ACP and AKP) in hepatopancreas and two in muscle (Na^+ , K^+ -ATPase and TChE) were measured. The results showed that the effects of trichlorphon on the immune parameters were different. The activity of T-SOD increased significantly after exposure to 0.132 mg/L trichlorphon for 4 days and 0.528 mg/L trichlorphon for 1 day. The activity of CAT was significantly higher compared with the control group at the concentration of 0.132 mg/L and 0.264 mg/L after 2 days. The activities of ACP and AKP were always lower than those of the control group during the period of 12 days in all groups, and ACP activity decreased continuously from 1 d to 4 d. The activity of TChE in muscle increased at the concentration of 0.132 mg/L and 0.264 mg/L trichlorphon after 1 day and 4 days, respectively. No difference in Na^+ , K^+ -ATPase activity was observed except the test groups of 0.528 mg/L trichlorphon with Na^+ , K^+ -ATPase activity significantly higher than that of the control group within 2 days ($P < 0.05$). The study suggested that the immune parameters of *Procambarus clarkia* in each test group were significantly lower than those of the control groups after 12 days, and they couldn't restore to the normal level.

Key words: *Procambarus clarkii*; trichlorphon; stress; immune parameter