DOI:10.15928/j.1674 - 3075.2017.04.013

镉胁迫下鲤血液免疫指标的变化

李 慧, 狄桂兰, 裴 超, 高 岩, 李 筝, 孔祥会

(河南师范大学水产学院,新乡 453007)

摘要:水体中镉含量超标会引起鱼体免疫反应,影响鱼类免疫相关酶的活性以及免疫因子的表达。通过对鲤(Cyprinus carpio)幼鱼进行镉(Cd)暴露,检测了血液中非特异性免疫相关指标。结果显示,0.05 mg/L和0.5 mg/L的镉可以引起血清溶菌酶活性的显著升高;0.5 mg/L的镉导致血液白细胞吞噬百分比的显著降低;0.005 mg/L、0.05 mg/L和0.5 mg/L镉均导致鲤血清中酸性磷酸酶活性的显著升高;0.05 mg/L和0.5 mg/L镉引起血清中碱性磷酸酶活性的显著降低;0.005 mg/L、0.05 mg/L和0.5 mg/L镉引起血清中碱性磷酸酶活性的显著降低;0.005 mg/L、0.05 mg/L和0.5 mg/L镉暴露组的血细胞呼吸爆发活性与对照组相比极显著降低。研究发现镉对鲤幼鱼具有免疫毒性,酸性磷酸酶和血细胞呼吸爆发活性发生了显著变化,说明酸性磷酸酶和血细胞呼吸爆发活性对镉较为敏感,可以作为水环境中低浓度镉的标志物。镉暴露组的血细胞爆发活性的显著降低,证明镉的免疫毒性与体内氧化应激相关。

关键词:镉;鲤;免疫指标

中图分类号:X502 文献标志码:A 文章编号:1674-3075(2017)04-0090-06

镉(Cadmium,Cd)是一种毒性较大的重金属,随着采矿、治炼、电镀、化工等自然活动和人类活动进入空气、水体和土壤。美国毒物管理委员会将镉列为第6位危害人体健康的有毒物质,多个国家将其列入水中优先控制污染物名单。目前,几乎各种水体中都含有低浓度的镉,多种生物体因为镉元素的广泛存在而长期受到影响(Jarup et al, 2009)。镉是生物体内的非必需元素,但其生物半衰期很长,可以通过食物链在动物体内富集,可分布到肝、肾、脑、肠、骨骼、肌肉、眼等多个组织器官中,并对这些组织和器官的结构和功能造成损害。近年来,我国水体中镉污染屡有报道,2005年广东北江韶关段、2006年和2009年湖南湘江、2012年广西龙江河均发生过镉污染事件。

镉的毒性作用广泛,目前研究较多的是有关生殖毒性和遗传毒性,对其免疫毒性的研究较少,且对其机理迄今还不是很清楚。水体中镉可持续地对鱼类产生危害,镉作为外源物质进入鱼体之后会激发免疫响应。研究表明,Cd 暴露可引起鱼体先天性免

收稿日期:2016-05-31

基金项目:河南省高等学校重点科研项目计划(15A240005);河南师范大学博士启动课题(qd14178);河南师范大学青年科学基金(2015QK31);甘肃省环境生物监测与修复重点实验室开放基金(GBBL2015003)。

作者简介:李慧,1984 年生,女,讲师,研究方向为环境效应与水产动物健康。E-mail:l_h_14@163.com

疫和特异性免疫(Thuvander,1989)。Cd 影响先天性免疫主要表现在可导致鱼体溶菌酶活性显著降低(Sövényi & Szakolczai,1993),补体溶血活性显著降低、血清过氧化物酶活性升高、头肾中白细胞的呼吸爆发显著降低、吞噬细胞的吞噬能力显著增强(Guardiola et al, 2013),白细胞活力下降、Hsp 70(热休克 70 kDa 蛋白, Heat shock 70 kDa protein)mRNA的表达量显著升高(Vazzana et al, 2014);还可引起免疫细胞的凋亡(丁磊等,2005)。在特异性免疫方面,Cd 可导致鱼体血清总免疫球蛋白 M 显著升高(Guardiola et al, 2013);在被镉污染水体生活的鱼类通常对抗原刺激产生较弱的免疫应答或者不发生免疫应答(Gardner, 1970)。大量证据表明,镉的毒性与其引起的氧化应激关系十分密切(Matovic et al, 2015)。

鱼类属于低等脊椎动物,虽然兼具非特异性免疫和特异性免疫,但其特异性免疫系统不完善,主要依靠非特异性免疫来清除入侵的病原菌等外界异物。鱼类的非特异性免疫包括机体的屏障作用、体液中抗微生物的各种物质和吞噬细胞的吞噬作用。鲤(Cyprinus carpio)是一种分布广泛的鱼类,具有较高的经济价值。本研究以鲤为实验动物,作为研究水环境镉污染对水生动物免疫胁迫的模型,通过对鲤幼鱼进行不同浓度的镉暴露,检测其血液中非特异性免疫相关指标的变化,探讨此变化是否与氧化应激有关,为研究镉的免疫毒性和机理提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

试验鱼为黄河鲤,购于郑州黄河鲤良种场。主要试剂:氯化镉(上海阿拉丁生化科技股份有限公司);2',7'-二氯荧光素二乙酸盐(DCFH-DA)、溶壁微球菌(Micrococcus lysodeikticus)[(Sigma-Aldrich(上海)贸易有限公司];金黄色葡萄球菌(Staphylococcus aureus)(河南师范大学水产学院微生物教研室);吉姆萨染液(碧云天生物技术有限公司);酸性磷酸酶(acid phosphatase,ACP)检测试剂盒、碱性磷酸酶 AKP(alkaline phosphatase,AKP)检测试剂盒、一氧化氮(Nitric Monoxide,NO)检测试剂盒(南京建成生物科技有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 实验鱼和样品处理 选取 70 尾鲤,体重 (81 ± 5) g,在实验室驯养 14 d,养殖用水为曝气 48 h的自来水,连续充气;水温 $(18\pm2)^{\circ}$ C,pH 为 (7.0 ± 0.1) ;每天定时喂食 3 次。暴露前重新随机分为 4 组 (15 尾/组),分别为:(1) 对照组(不添加 Cd^{2+});(2) 低浓度组(采用我国地表水环境质量标准规定水产养殖区镉含量的上限为低浓度组,添加 0.005 mg/L Cd^{2+});(3) 中浓度组(添加 0.05 mg/L Cd^{2+});(4) 高浓度组(添加 0.5 mg/L Cd^{2+});(4) 高浓度组(添加 0.5 mg/L Cd^{2+})。每个浓度设 3 个平行。暴露 21 d,期间禁食,每 3 d 换水 50%,补加 Cd^{2+} 。待暴露结束后,从实验鲤的尾静脉取血,肝素抗凝,4 000 r/min离心 10 min,分离上清,得到血清。

1.2.2 溶菌酶活性测定 参考刘睿智等(2006)的 方法并进行相应的改进,将溶壁微球菌冻干粉溶于磷酸缓冲液,制成 0.2 mg/mL 的菌悬液。将 0.1 mL 血清与 3 mL 菌悬液混匀,立即置于 570 nm 测量其吸光度 OD_1 ,将混合液置于 28% 孵育 30 min,待孵育结束后,立即冰浴 10 min 终止反应,立即置于 570 nm 再次测量吸光度 OD_2 , OD_1 - OD_2 为 OD 值的变化。将溶菌酶活性单位定义为:在 28%、pH 6.4 条件下,每 0.1 mL 血清每 1 min 使 OD_{570} 下降 0.001 为 1 个活性单位。

1.2.3 血液白细胞吞噬能力测定 将金黄色葡萄球菌接种在肉汤培养基中,35℃培养24h,5000 r/min离心90 s 收集菌体,用无菌生理盐水离心洗涤,加入1%的福尔马林,30℃灭活24h,用无菌生理盐水离心洗涤3次,采用比浊法调整细菌浓度为6×108CFU/mL,即为福尔马林灭活(F-SA)菌

体,作为检测吞噬细胞吞噬活性的吞噬原(张照红等,2011)。所得菌体在-20℃的温度下储存备用。取抗凝血和储存的 F-SA 菌体 2:1(V/V)充分混匀后,25℃水浴 45 min,每隔 10 min 摇动混匀 1 次。吸取血细胞涂片,每个样品涂 5 片,自然晾干后滴加甲醇固定 3 min,蒸馏水冲洗,晾干;吉姆萨染色,水洗风干后,在油镜下观察,计数 100 个血细胞,记下吞噬 F-SA 的细胞数和每个细胞吞噬 F-SA 的菌体数。吞噬活性分别以吞噬百分比(PP)和吞噬指数(PI)表示:

 $PP = N/100 \times 100\%$

PI = X/Y

式中:N为100个白细胞中参与吞噬的细胞数;X为100个白细胞内的细菌总数;Y为参与吞噬的白细胞数。

1.2.4 AKP、ACP 活性和 NO 含量检测 AKP、ACP 活性和 NO 含量均采用比色法测定,按照说明书步骤进行操作。AKP/ACP 活性均定义为 100 mL 血清在 37℃与基质作用 15 min 产生 1 mg 酚为 1 个金氏单位。

1.2.5 血细胞呼吸爆发活性测定 按照冼健安等 (2011)的方法进行改进。取抗凝全血 50 μL,加入 DCFH-DA 使其终浓度为 1 μM,室温避光孵育 30 min,200 目筛网过滤后使用多功能酶标仪检测,激发485 nm,发射535 nm,测定荧光值。DCFH-DA 自由穿过细胞膜进入细胞后,被细胞内的酯酶水解生成 DCFH,DCFH 不能随意穿透细胞膜,就被留在细胞内,而细胞内的活性氧氧化无荧光的 DCFH 生成有荧光的 DCF。DCF 平均荧光量可间接代表呼吸爆发活力,DCF 越大表明呼吸爆发活力越大。

1.3 数据分析

研究实验数据以(平均值 ± 标准差)表示,采用 SPSS 19.0 软件中统计分析工具,进行单因素方差分析(One-way analysis of variance, ANOVA)和多重比较分析(LSD post hoc test),P < 0.05表示差异显著,P < 0.01表示差异极显著。

2 结果与分析

2.1 血清溶菌酶活性变化

不同浓度镉暴露 21 d 后,鲤血清溶菌酶活性呈现不同变化(图 1)。低浓度组(0.005 mg/L)与对照组之间,溶菌酶活性无显著性变化(P > 0.05);0.05 mg/L锅浓度下溶菌酶活性极显著高于对照组(P < 0.01),是对照组的 1.96 倍;0.5 mg/L 锅浓度

下溶菌酶活性是对照组的 1.65 倍,与对照组相比有显著差异(P < 0.05)。

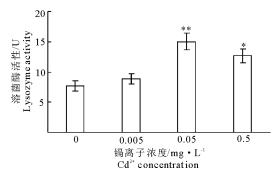


图 1 镉对鲤血清溶菌酶活性的影响

Fig. 1 Lysozyme activity in serum of *C. carpio* after exposure to different cadmium concentrations

2.2 血液白细胞吞噬能力

镉对鲤血液中白细胞吞噬能力的影响见图 2 和图 3。结果表明,用不同浓度的镉暴露鲤 21 d 后,只有 0.5 mg/L 镉导致鲤血液白细胞吞噬百分率下降,显著低于对照组 (P < 0.05),而 0.005 mg/L 和 0.05 mg/L 锅对鲤的白细胞吞噬百分率影响不显著 (P > 0.05)(图 2)。不同镉浓度下鲤的白细胞吞噬指数均无显著影响(P > 0.05)(图 3)。

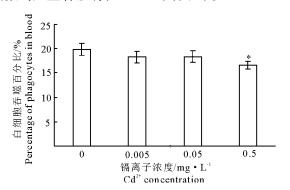


图 2 镉对鲤血液白细胞吞噬百分比的影响

Fig. 2 Percentage of phagocytes in blood leucocytes of C. carpio after exposure to different cadmium concentrations

2.3 ACP 和 AKP 活性变化

镉暴露下鲤血清中 ACP 和 AKP 活性发生明显变化(图 4 和图 5)。不同镉浓度(0.005 mg/L, 0.05 mg/L和 0.5 mg/L)暴露均可导致鲤血清中 ACP 活性显著升高,与对照组相比差异极显著 (P < 0.01)(图 4)。不同浓度镉暴露后,鲤血清中 AKP 活性,在 0.05 mg/L 和 0.5 mg/L 镉浓度下显著降低(P < 0.05)(图 5)。

2.4 血细胞呼吸爆发活性和 NO 含量变化

呼吸爆发活性所得数据是 DCF 平均荧光量,可

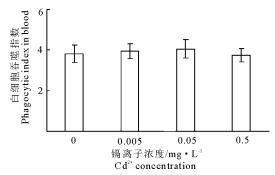


图 3 镉对鲤血液白细胞的吞噬指数的影响

Fig. 3 Phagocytic index in blood leucocytes of *C. carpio* after exposure to different cadmium concentrations

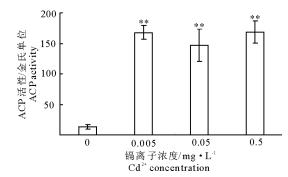


图 4 镉对鲤血清中 ACP 酶活性的影响

Fig. 4 ACP activity in serum of *C. carpio* after exposure to different cadmium concentrations

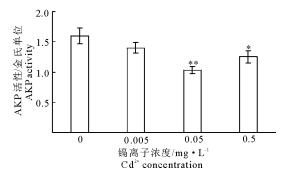


图 5 镉对鲤血清中 AKP 酶活性的影响

Fig. 5 AKP activity in serum of *C. carpio* after exposure to different cadmium concentrations

以间接反映血细胞呼吸爆发活性。结果表明,不同浓度的镉暴露鲤 21~d 后,暴露组血细胞呼吸爆发活性与对照组相比极显著降低(P < 0.01)(图 6)。镉对鲤血清中 NO 含量的结果显示,0.005~mg/L,0.05~mg/L和0.5~mg/L锅对血清中 NO 含量没有显著影响(P > 0.05)(图 7)。

3 讨论

3.1 镉浓度对溶菌酶活性的影响

溶菌酶是体液免疫中重要成分之一,可作为鱼 类重要的非特异性免疫评价指标之一,其专门作用

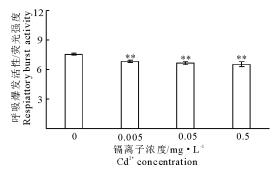


图 6 镉对鲤血细胞呼吸爆发活性的影响

Fig. 6 Respiratory burst activity in blood of *C. carpio* after exposure to different cadmium concentrations

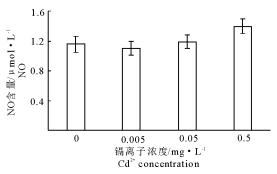


图 7 镉对鲤血清 NO 含量的影响

Fig. 7 NO level in serum of *C. carpio* after exposure to different cadmium concentrations

于微生物细胞壁的水解酶,刺激吞噬活性,参与调节免疫细胞的分化和增殖(Ghiasi等,2010),主要由嗜中性白细胞和单核细胞等产生,是吞噬细胞杀菌的物质基础,能破坏和消除侵入体内的细菌等病原体,并能分泌到细胞外,如血液和体表黏液中,担负起机体防御的功能(Verlhac et al, 1996)。本实验发现,血清溶菌酶含量随镉浓度的增高有升高的趋势,且0.05 mg/L和0.5 mg/L镉暴露组显著高于对照组,这一结果与在其他鱼类中的研究结果一致(陈剑兴等,2005;El-Boshyet al, 2014),表明镉对鲤的非特异性体液免疫功能有刺激作用。

3.2 镉暴露对白细胞吞噬作用的影响

白细胞中的嗜中性粒细胞和单核细胞是机体主要的吞噬细胞,对维持机体生理状态的稳定和机体在抵抗疾病方面至关重要,其对入侵的病原微生物进行吞噬和杀灭。本实验发现只有 0.5 mg/L 镉暴露 21d 导致鲤血液白细胞吞噬百分率和对照组相比有显著降低,所有浓度的镉对鲤的白细胞吞噬指数都没有显著影响,说明镉对鲤白细胞的吞噬作用影响不大。秦粉菊等(2011)和 El-Boshy等(2014)的研究发现镉可以造成白细胞吞噬指数的显著降低;Witeska等(2007)认为鲤白细胞的吞噬活性对镉不

够敏感。与之相反的是, Elsasser 等(1986)认为镉 暴露 1 h 会引起吞噬细胞的吞噬指数显著增大, 暴 露 24 h 之后, 结果多变。这些差异可能与鱼的种 类、暴露浓度、温度和时间的不同等因素有关。

3.3 ACP 酶和 AKP 酶在镉暴露后的变化

吞噬细胞完成对外来异物的吞噬后,会产生溶酶体酶裂解和消化被吞噬的外源物。ACP是溶酶体的标志酶,本研究中0.005 mg/L、0.05 mg/L、0.5 mg/L、0.5 mg/L、0.5 mg/L、0.5 mg/L、0.5 mg/L、0.5 mg/L、0.65 mg/L、0.5 mg/L 0.04 mg/E 是留于这个人的研究结果一致。原因可能是镉引起体内的 pH 值发生了变化,导致细胞膜结构稳定性降低,渗透性发生改变,使ACP释放增加,活性升高。ACP、AKP广泛存在于各种生物体内,具有机体防御、免疫调节、离子分泌等重要的生理作用。AKP能直接参与有机磷的代谢,亦与DNA、蛋白质及脂类的代谢有关。本试验中,经0.05 mg/L 和0.5 mg/L Cd²+暴露后血清 AKP活性显著降低,与秦粉菊等(2011)和白秀娟等(2009)的实验结果一致,可能因为镉造成的内脏损伤并未达到可溶性酶漏出的程度。

3.4 镉浓度对巨噬细胞杀菌能力的影响

机体内活性氧的产生和巨噬细胞杀菌机能的强 弱有关,血细胞呼吸爆发活性是评价鱼类非特异性 免疫系统巨噬细胞机能的重要指标。研究表明,镉 会引起多种细胞的氧化应激,从而提高细胞脂质过 氧化物和谷胱甘肽水平,目前普遍认为氧化应激是 镉毒性作用的重要途径(Kim et al, 2006)。这些结 果暗示镉诱导的免疫毒性可能与氧化应激相关。本 研究发现,不同浓度的 Cd2+暴露 21 d 导致血细胞呼 吸爆发活性降低了10%~14%,与对照组相比,差 异极显著(P<0.01),表明镉导致鲤的巨噬细胞杀 菌能力的降低。NO 是一种可进入细胞内部的信号 分子,参与调节多个细胞过程,包括线粒体代谢和免 疫响应(Ivaninaet al, 2010)。它可以有效地激活巨 噬细胞的细胞毒作用,可以介导 TNF、IL-1 等细胞免 疫因子,也可以调控白细胞的粘附,抑制 T 细胞的 增殖,增加 NK 细胞的活性等,在多条免疫通路里发 挥作用(杨光,1995)。本研究结果表明,Cd²⁺对 NO 没有显著影响;而 El-Boshy 等(2014)等认为镉导致 NO 的显著降低, Notenbo 等(2002)以及李金龙等 (2010)均认为镉导致机体 NO 的显著升高。NO 是 一种反应性极强的自由基,本身半衰期极短,含量变 化很快,可能是由于检测时间不一致,导致镉暴露后

NO 含量变化不一致。

4 结论

本研究表明,镉胁迫对鲤非特异性免疫指标有影响;其中高浓度的镉(0.5 mg/L)对所检测的免疫相关酶活性、血液白细胞吞噬能力、血细胞呼吸爆发活性影响显著。在所检测指标中,ACP 和血细胞呼吸爆发活性对较低浓度的镉较为敏感,可以作为水体中低浓度镉的标志物,镉的免疫毒性与机体内氧化应激有关,后续将会使用氧化应激的激动剂和抑制剂来验证。

参考文献

- 白秀娟, 卢伙胜, 唐峰华, 2009. Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 和 Cd^{2+} 对茂名 海域文昌鱼酸、碱性磷酸酶的影响[J]. 水产科学, 28 (9): 513 517.
- 陈剑兴, 蔡春芳, 宋学宏,等, 2005. 镉对鲫酶活性的影响 [J]. 水利渔业, 25(3): 17-18.
- 丁磊, 吴康, 张伟明, 等, 2005. 镉对鲫外周血单个核细胞凋亡的诱导[J]. 水产学报, 29(1); 55-59.
- 李金龙, 唐兆新, 孙刚, 等, 2010. 一氧化氮自由基在镉致鸡脾脏淋巴细胞毒性中的作用[J]. 黑龙江畜牧兽医(科技版),(6):117-118.
- 刘睿智,郑榕辉,张纪亮,等,2006. 苯并(a)芘、三丁基锡及其混合物对褐菖鲉溶菌酶活力的影响[J]. 厦门大学学报(自然科学版),45(2):253-256.
- 秦粉菊,金琏,顾华杰,等,2011. 纳米硒对镉胁迫下吉富罗非鱼非特异性免疫和抗氧化功能的影响 [J]. 农业环境科学学报,30(6):1044-1050.
- 孙朦朦, 黄亚冬, 孙学亮, 等, 2014. 镉对黄金鲫部分生化 指标的影响[J]. 天津农学院院报, 21(2): 13-17.
- 冼健安,王安利,苗玉涛,等,2011. 流式细胞术检测脂多糖对罗氏沼虾血细胞活性和免疫功能的影响[J]. 海洋学报,33(1):170-177.
- 杨光,1995. 一氧化氮与炎症及免疫调节[J]. 国外医学:免疫学分册,(6):303-307.
- 张照红, 林旋, 张伟妮, 等, 2011. 复方中草药对奥尼罗非鱼血液非特异性免疫功能的影响[J]. 水产科学, 30(1): 1-5.
- Thuvander A, 1989. Cadmium exposure of rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson: effects on immune functions [J].

 Journal of Fish Biology, 35(4): 521 529.
- El-Boshy M, El-Ashram A, Risha E, et al, 2014. Dietary fucoidan enhance the non-specific immune response and disease resistance in African catfish, *Clarias gariepinus*, immunosuppressed by cadmium chloride [J]. Vet Immunol Immunopathol, 162(3/4): 168-173.
- Elsasser M S, Roberson B S, Hetrick F M, 1986. Effects of

- metals on the chemiluminescent response of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) phagocytes[J]. Vet Immunol Immunopathol, 12(1/4): 243 250.
- Gardner A W, 1970. CADMIUM[J]. The Lancet, 295: 36 37.
- Ghiasi F, Mirzargar S S, Badakhshan H, et al, 2010. Effects of Low Concentration of Cadmium on the Level of Lysozyme in Serum, Leukocyte Count and Phagocytic Index in *Cyprinus carpio* under the Wintering Conditions[J]. Journal of Fisheries & Aquatic Science, 5(2): 113 119.
- Guardiola F A, Cuesta A, Meseguer J, et al, 2013. Accumulation, histopathology and immunotoxicological effects of waterborne cadmium on gilthead seabream (*Sparus aurata*) [J]. Fish Shellfish Immunol, 35(3): 792 800.
- Ivanina A V, Eilers S, Kurochkin I O, et al, 2010. Effects of cadmium exposure and intermittent anoxia on nitric oxide metabolism in eastern oysters, *Crassostrea virginica* [J]. J Exp Biol, 213(3): 433-444.
- Sövényi J, Szakolczai J, 1993. Studies on the toxic and immunosuppressive effects of cadmium on the common carp[J]. Acta Vet Hung, 41(3/4): 415-426.
- Jarup L, Akesson A, 2009. Current status of cadmium as an environmental health problem [J]. Toxicol Appl Pharmacol, 238(3): 201 208.
- Kim J, Sharma R P, 2006. Cadmium-induced apoptosis in murine macrophages is antagonized by antioxidants and caspase inhibitors [J]. J Toxicol Environ Health A, 69 (12): 1181-1201.
- Matovic V, Buha A, Ethukic-Cosic D, et al, 2015. Insight into the oxidative stress induced by lead and/or cadmium in blood, liver and kidneys[J]. Food Chem Toxicol, 78: 130 140.
- Notenboom S, Miller D S, Smits P, et al, 2002. Role of NO in endothelin-regulated drug transport in the renal proximal tubule [J]. Am J Physiol Renal Physiol, 282(3): 458 464.
- Vazzana M, Celi M, Tramati C, et al, 2014. In vitro effect of cadmium and copper on separated blood leukocytes of *Dicentrarchus labrax* [J]. Ecotoxicol Environ Saf, 102: 113 120.
- Verlhac V, Gabaudan J, Obach A, et al, 1996. Influence of dietary glucan and vitamin C on non-specific and specific immune response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. Aquaculture, 143(2): 123-133.
- Witeska M, Wakulska M, 2007. The effects of heavy metals on common carp white blood cells in vitro [J]. Altern Lab Anim, 35(1): 87-92.

(责任编辑 万月华)

Immune Response of Common Carp (Cyprinus carpio) Exposed to Cadmium

LI Hui, DI Gui-lan, PEI Chao, GAO Yan, LI Zheng, KONG Xiang-hui

(College of Fisheries, Henan Normal University, Xinxiang 453007, P. R. China)

Abstract: Cadmium (Cd) is a heavy metal commonly found in water around the world. Cd has a long biological half-life, so it can accumulate to significant levels in the body and eventually lead to detrimental effects in animals and humans. Excessive cadmium ion concentrations in water produces an immune response in fish, both innate and adaptive, the response alters the activity of immune enzymes and the expression of immunologic factors. Common carp (Cyprinus carpio) is one of the most abundant freshwater fish species, distributed globally, and it is an important cultured fish species in China. The present study investigated the immune response and variation of non-specific immunity indicators in the blood of C. carpio induced by Cd stress, and its relationship with oxidative stress. The results provide insight on the mechanism of cadmium immune toxicity. Four treaments were set, including a control group with no Cd2+, a low concentration group with 0.005 mg/L Cd2+ (the upper limit for total Cd, according to the environmental quality standard for aquaculture, spawning grounds and surface water in China), a medium concentration group with 0.05 mg/L Cd2+ and a high concentration group with 0.5 mg/L Cd2+. Juvenile C. carpio with body weight (81 ±5) g were randomly assigned into the four groups after a 14 day acclimatation, with three individuals for each group and each group in triplicate. After exposure for 21 days, lysozyme activity, acid phosphatase (ACP) activity, alkline phosphatase (AKP) activity, nitric oxide (NO) level in serum, percentage of phagocytes and phagocytic index in blood leucocytes and the respiratory burst activity of all test fish were measured using chemical chromatometry. Results include the following: (1) the serum lysozyme activity of C. carpio in the 0.05 mg/Land 0.5 mg/L Cd groups significantly increased; (2) the percentage of phagocytes in blood leucocytes of C. carpio decreased significantly after exposure to 0.5 mg/L Cd; (3) the ACP activity of C. carpio at all exposure levels increased significantly; (4) after expoure to 0.05 mg/L and 0.5 mg/L cadmium, the serum AKP activity of C. carpio decreased significantly; (5) the respiratory burst activity of blood cells at all Cd exposure levels decreased significantly. Results show that ACP activity and respiratory burst activity of blood cells are especially sensitive to Cd, so we suggest their use as indicators of low level Cd pollution. In conclusion, Cd is immunotoxic to juvenile C. carpio and the mechanism is associated with oxidative stress.

Key words: cadmium; *Cyprinus carpio*; immune parameters