

ISSN 1000-0933
CN 11-2031/Q

生态学报

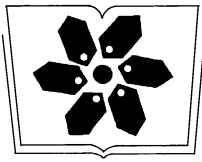
Acta Ecologica Sinica



第 33 卷 第 17 期 Vol.33 No.17 **2013**

中国生态学会
中国科学院生态环境研究中心
科学出版社

主办
出版



中国科学院科学出版基金资助出版

生态学报

(SHENGTAI XUEBAO)

第 33 卷 第 17 期 2013 年 9 月 (半月刊)

目次

前沿理论与学科综述

- 植物角质层蜡质的化学组成研究综述 曾 琼, 刘德春, 刘 勇 (5133)
- 中国滨海盐沼湿地碳收支与碳循环过程研究进展 曹 磊, 宋金明, 李学刚, 等 (5141)

个体与基础生态

- 秸秆隔层对盐碱土水盐运移及食葵光合特性的影响 赵永敢, 逢焕成, 李玉义, 等 (5153)
- 盐地碱蓬二型性种子及其幼苗对盐渍环境的适应性 刘 艳, 周家超, 张晓东, 等 (5162)
- 不同抗旱性花生品种的根系形态发育及其对干旱胁迫的响应 丁 红, 张智猛, 戴良香, 等 (5169)
- 夏季苹果新梢生理指标与抗苹果绵蚜的关系 王西存, 周洪旭, 于 毅, 等 (5177)
- 花期海蓬子对盐胁迫的生理响应 刘伟成, 郑春芳, 陈 琛, 等 (5184)
- 白蜡多年卧孔菌生物学特性及驯化栽培 鲁 铁, 图力古尔 (5194)
- 重度火烧迹地微地形对土壤微生物特性的影响——以坡度和坡向为例
..... 白爱芹, 傅伯杰, 曲来叶, 等 (5201)
- 秸秆还田与施肥对稻田土壤微生物生物量及固氮菌群落结构的影响 刘骁蓓, 涂仕华, 孙锡发, 等 (5210)
- 大穗型小麦叶片性状、养分含量及氮素分配特征 王丽芳, 王德轩, 上官周平 (5219)
- 复合不育剂 EP-1 对小鼠空间记忆与焦虑行为的影响 王晓佳, 秦婷婷, 胡 霞, 等 (5228)

种群、群落和生态系统

- 小兴安岭阔叶红松混交林林隙特征 刘少冲, 王敬华, 段文标, 等 (5234)
- 高寒矮嵩草群落退化演替系列氮、磷生态化学计量学特征 林 丽, 李以康, 张法伟, 等 (5245)
- 中亚热带人工针叶林生态系统碳通量拆分差异分析 黄 昆, 王绍强, 王辉民, 等 (5252)
- 高寒山区一年生混播牧草生态位对密度的响应 赵成章, 张 静, 盛亚萍 (5266)
- 乳山近海大型底栖动物功能摄食类群 彭松耀, 李新正 (5274)

景观、区域和全球生态

- 采伐干扰对大兴安岭落叶松-苔草沼泽植被碳储量的影响 牟长城, 卢慧翠, 包 旭, 等 (5286)
- 西南喀斯特地区轮作旱地土壤 CO₂ 通量 房 彬, 李心清, 程建中, 等 (5299)
- 干湿季节下基于遥感和电磁感应技术的塔里木盆地北缘绿洲土壤盐分的空间变异性
..... 姚 远, 丁建丽, 雷 磊, 等 (5308)
- 东北温带次生林和落叶松人工林土壤 CH₄ 吸收和 N₂O 排放通量 孙海龙, 张彦东, 吴世义 (5320)
- 新疆东部天山蝶类多样性及其垂直分布 张 鑫, 胡红英, 吕昭智 (5329)
- 玉米农田空气动力学参数动态及其与影响因子的关系 蔡 福, 周广胜, 明惠青, 等 (5339)

天山北坡家庭牧场复合系统对极端气候的响应过程..... 李西良,侯向阳,丁 勇,等 (5353)

大城市边缘区景观破碎化空间异质性——以北京市顺义区为例..... 李 灿,张凤荣,朱泰峰,等 (5363)

资源与产业生态

基于 GLBM 模型的中国大陆阿根廷滑柔鱼鱿钓渔业 CPUE 标准化 陆化杰,陈新军,曹 杰 (5375)

三峡库区古夫河水质时空分异特征..... 冉桂花,葛继稳,苗文杰,等 (5385)

城乡与社会生态

汉、藏、回族地区农户的环境影响——以甘肃省张掖市、甘南藏族自治州、临夏回族自治州为例.....

..... 赵雪雁,毛笑文 (5397)

研究简报

中国近海浮游动物群落结构及季节变化..... 杜明敏,刘镇盛,王春生,等 (5407)

海洋污染物对菲律宾蛤仔的免疫毒性..... 丁鉴锋,闫喜武,赵力强,等 (5419)

衰亡期沉水植物对水和沉积物磷迁移的影响..... 王立志,王国祥 (5426)

伊洛河流域外来草本植物分布格局..... 郭屹立,丁圣彦,苏 思,等 (5438)

期刊基本参数:CN 11-2031/Q * 1981 * m * 16 * 316 * zh * P * ¥90.00 * 1510 * 32 * 2013-09



封面图说: 帽儿山次生林林相——帽儿山属于长白山山脉的张广才岭西坡,松花江南岸支流阿什河的上游,最高海拔 805m,由侏罗纪中酸性火山岩构成,是哈尔滨市附近的最高峰,因其貌似冠状而得名。东北林业大学于 1958 年在此建立了实验林场。山上生长着松树、榆树、杨树及各种灌木等,栖息着山鸡、野兔等野生动物,在茂密的草地上还生长有各种蘑菇。其地带性植被为温带针阔混交林,目前状况为天然次生林。部分地方次生林转变为落叶松人工林后,落叶松林地的凋落物层影响了林地土壤水分的格局。

彩图及图说提供: 陈建伟教授 北京林业大学 E-mail: cites.chenjw@163.com

DOI: 10.5846/stxb201206250890

丁鉴锋, 闫喜武, 赵力强, 杨凤, 王连顺, 包鹏云. 海洋污染物对菲律宾蛤仔的免疫毒性. 生态学报, 2013, 33(17): 5419-5425.

Ding J F, Yan X W, Zhao L Q, Yang F, Wang L S, Bao P Y. Immunotoxicity of marine pollutants on the clam *Ruditapes philippinarum*. Acta Ecologica Sinica, 2013, 33(17): 5419-5425.

海洋污染物对菲律宾蛤仔的免疫毒性

丁鉴锋^{1,2,*}, 闫喜武^{1,2}, 赵力强^{1,2}, 杨 凤^{1,2}, 王连顺¹, 包鹏云¹

(1. 大连海洋大学, 大连 116023; 2. 辽宁省贝类良种繁育工程技术研究中心, 大连 116023)

摘要: 环境污染能够影响养殖贝类的免疫能力, 是导致贝类大规模死亡的重要原因之一。探讨了大连周边 4 个海区污染物对采集的菲律宾蛤仔(*Ruditapes philippinarum*)免疫毒性影响。结果发现: 污染物浓度和种类对蛤仔的免疫和生理指标具有重要影响, 在重金属和石油污染物浓度较低的皮口海区, 血细胞总数、亮氨酸氨基肽酶活性和血淋巴溶菌酶活性均显著高于其它 3 个海区 ($P < 0.05$), 而蛤仔的脂质氧化水平则较低; 在重金属和石油污染物浓度较高的黑石礁海区, 蛤仔血淋巴谷胱甘肽含量显著高于其它 3 个海区 ($P < 0.05$); 在重金属浓度较高的庄河海区, 蛤仔表现出较高的超氧化物歧化酶活性 ($P < 0.05$)。

关键词: 菲律宾蛤仔; 海洋污染物; 免疫毒性

Immunotoxicity of marine pollutants on the clam *Ruditapes philippinarum*

DING Jianfeng^{1,2,*}, YAN Xiwu^{1,2}, ZHAO Liqiang^{1,2}, YANG Feng^{1,2}, WANG Lianshun¹, BAO Pengyun¹

¹ Dalian Ocean University, Dalian, Liaoning Province, Dalian 116023, China

² Engineering Research Center of Shellfish Culture and Breeding in Liaoning Province, Dalian, Liaoning Province, Dalian 116023, China

Abstract: One of the most important reasons for the abnormal mortality of the cultured bivalve is the environmental contaminants, which induce suppression for the immune system of the bivalve. In this research, the immunotoxicity of marine pollutants on the clam *Ruditapes philippinarum* collected from the coast around Dalian was explored. The results indicated that types and concentrations of contaminants had important influence on the immunity and physiological indexes. In Pikou Sea area, owing to the lower content of heavy metal and oils, total haemocyte counts (THC), leucine aminopeptidase (LAP) activity and lysozyme (LYZ) activity of clams were significantly higher than the other three sea areas ($P < 0.05$), and a lower haemolymph lipid peroxidation (MDA) level was also found. In Heishijiao area with higher content heavy metals and oils, the glutathione (GSH + GSSG) content of haemolymph in clams was significantly higher than the other three sea areas ($P < 0.05$). And the superoxide dismutase (SOD) levels of haemolymph were higher ($P < 0.05$) in clams collected from Zhuanghe Sea area, where a higher concentration of heavy metal was detected.

Key Words: *Ruditapes philippinarum*; marine pollutants; immunotoxicity

近年来,随着沿海城市工农业生产的快速发展,以及一些灾害性事件的发生,导致沿海海域环境污染日趋加剧。另一方面,养殖海区自身也会产生一些污染物,结果导致浅海养殖海区环境恶化,严重影响了海水养殖产业的健康可持续发展。菲律宾蛤仔是我国北方一种重要的滩涂养殖贝类,调查发现:环境污染导致贝类的免疫能力降低,加之高温季节有害菌的大量繁殖,可能是夏季养殖蛤仔大规模死亡的重要原因之一^[1]。

基金项目: 国家 863 计划 (2012AA10A410-2); 国家级重大科研项目 (cars-48); 大连海洋大学博士启动基金 (SYBS201201)

收稿日期: 2012-06-25; **修订日期:** 2013-06-21

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: yanxiwu@dlou.edu.cn

因此,本研究旨在通过比较不同海区的污染物对蛤仔免疫能力的影响,探讨蛤仔大规模死亡的原因,为菲律宾蛤仔养殖业的绿色、健康和可持续发展提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 样品采集

测定用菲律宾蛤仔采至大连周边海区:皮口、登沙河、庄河和黑石礁海区(图 1)。

1.2 蛤仔体内污染物含量的测定

蛤仔体内污染物含量委托国家海洋环境监测中心(大连)进行测定,测定结果如表 1 所示。

1.3 血淋巴细胞样品制备

取各采样点蛤仔样品 30 个,使用 1mL 无菌注射器从菲律宾蛤仔围心腔中分别抽取血淋巴 200μL,将 6 个蛤仔的血淋巴混合加入 1.5mL 样品管作为一个测定样品,并置于冰上保存,待后续实验测定。

1.4 肥满度指数(CI)测定

记录采血后蛤仔个体壳长,并将软组织剥离放入烘箱中,60℃烘干 18h,测定组织干重并计算 CI 值。

CI 值=组织干重(g)/壳长(mm)×100

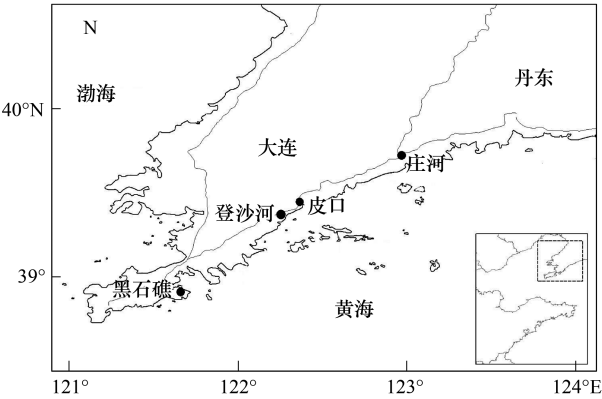


图 1 采样点地图

Fig.1 Map of Dalian showing the four sites where clams were collected

表 1 各海区蛤仔体内污染物含量

Table 1 Contaminant concentrations in clam tissue from different sea area

	含量 Concentrations/(mg/kg)							
	Cu	Pb	Zn	Cd	Cr	Hg	As	Oil
登沙河	1.5	0.105	13.6	0.119	0.74	0.007	0.37	14.7
皮口	1.1	0.187	11.2	0.139	0.41	0.007	0.38	13.5
庄河	7.1	0.64	89.3	0.84	1.49	0.07	8.56	9.12
黑石礁	8.00	0.79	127.33	0.67	3.42	0.04	6.78	18.54

1.5 血细胞总数测定(THC)

吸取 30μL 血淋巴细胞样品加入到等量的 BFC 固定液中,固定后样品加到血球计数板上,在 10 倍光学显微镜下观察计数。

BFC 固定液: NaCl 2%,乙酸钙 1%,甲醛 4%。

1.6 细胞膜稳定性

取 50μL 血淋巴细胞样品加入酶标板中,4℃孵育 45min;用生理盐水洗去未粘附血细胞(100μL×2);加入 200μL 0.004%中性红 20℃孵育 3h;用生理盐水洗去多余染料;再分别加入 200μL 酸化酒精破坏细胞膜及重新溶解中性红;将酶标板放入酶标仪中 OD₅₅₀ 读取数值。表示方法:每毫克蛋白对应的吸光度值变化。

1.7 血细胞吞噬活性

血细胞吞噬活性采用 Hannam 等人^[2]的方法,取 50μL 血淋巴细胞样品加入到 96 孔酶标板中,4℃孵育 1h;用 100μL 贝类生理盐水洗去未粘附血细胞 2 次;加入 50μL 中性红染过的酵母悬液(50×10⁷个/mL);20℃孵育 30min 后,加入 100μL BFC 终止反应;多余的酵母颗粒用生理盐水洗去,加入 100μL 酸化酒精,置于酶标仪中,使用 OD_{550nm} 读取吸光度值。活性表示方法:每毫克蛋白所吞噬的酵母颗粒数。

酵母标准曲线的制备:取 50μL 酵母颗粒(浓度分别为 6.25、12.5、25、50、100×10⁷个/mL),加入等量酸化酒精,OD_{550nm} 读取吸光度值,用酵母浓度与吸光度值作标准曲线。

贝类生理盐水配方:0.02mol/L HEPES,0.4mol/L NaCl,0.1mol/L MgSO_4 ,0.01mol/L KCl,0.01mol/L CaCl_2 ,调 pH 为 7.4。

酸化酒精配方:醋酸 1%,酒精 20%。

1.8 酚氧化活性

酚氧化酶采用 Zhang 等人改进的方法,以 L-dopa 为底物,胰蛋白酶为诱导因子^[3]。取 50 μL 血淋巴细胞样品加入到 96 孔板中,分别加入 50 μL CAC 缓冲液混合均匀;25 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 10min;加入 100 μL L-多巴胺(3mg/mL 溶于 CAC 缓冲液中),混合均匀后置于酶标仪中,读取 490nm 处吸光度值。酶活性的定义为在实验条件下,每分钟吸光度值增加 0.001 为 1 个酶活力单位。活性表示方法:每毫克蛋白所具有的酶活力。

CAC 缓冲液配方:0.01mol/L 二甲基胍酸钠,0.45mol/L NaCl,10mmol/L $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$,26mmol/L $\text{MgCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$,调 pH 7.0。

1.9 亮氨酸氨基肽酶(LAP)活性

LAP 活性测定采用 Oubella 等人^[4]的方法,向 96 孔酶标板各加入 100 μL 血淋巴细胞样品,再分别加入 75 μL Tris-HCl (0.2 mol/L, pH 8.0),混合均匀后分别加入 25 μL 10 mmol/L L-亮氨酸-4-硝基苯胺(去离子水配制, Sigma),立即放于酶标仪上,记录 20min 内吸光度的变化情况($\text{OD}_{405\text{ nm}}$,每 5min 读数 1 次)。酶活性以每毫克蛋白浓度改变的吸光度值 0.001 为一个酶活力单位。活性表示方法:每毫克蛋白所具有的酶活力。

1.10 溶菌酶活性测定

溶菌酶测定采用 Allam 和 Paillard^[5]改进后的方法,以鸡溶菌酶标准品为标准,取 40 μL 标准品(浓度分别为 0.6、1.25、2.5、5、10、20、40 mg/mL)或者血淋巴细胞样品加入 96 孔酶标板中;分别向各孔中加入 160 μL 容壁微球菌溶液(细菌 $\text{OD}_{600} = 0.4$,缓冲液为 0.06mol/L 磷酸盐缓冲液, pH 6.4);室温孵育 1h,540nm 读取吸光度值,采用标准曲线计算血淋巴细胞溶菌酶活性。活性表示方法:每毫克蛋白所具有的酶活力。

1.11 总谷胱甘肽(GSH+GSSG)的测定

总谷胱甘肽的测定采用碧云天公司的 GSH 和 GSSG 检测试剂盒进行,按照试剂盒说明书进行操作。

1.12 超氧化物歧化酶(SOD)活性测定

血淋巴超氧化物酶活性的测定采用碧云天生物技术研究室的总 SOD 活性检测试剂盒进行测定,按照试剂盒说明书进行操作。活性表示方法:每毫克蛋白所具有的酶活力。

1.13 脂质氧化(MDA)的测定

脂质氧化的测定采用碧云天公司的脂质氧化检测试剂盒进行,按照说明书进行相关操作。

1.14 总蛋白浓度的测定

血淋巴中总蛋白浓度的测定采用碧云天生物技术研究室 Bradford 蛋白浓度测定试剂盒进行测定,按照试剂盒说明进行操作。

1.15 数据统计

实验数据使用 spss11.5 软件分析,结果用平均值 $\pm$ 标准差(means $\pm$ SD)表示,均采用单因素方差分析。

2 结果

2.1 不同海区蛤仔个体肥满度指数比较

不同海区蛤仔个体肥满度指数依次为:皮口(1.47 ± 0.06)>黑石礁(1.05 ± 0.08)>庄河(0.87 ± 0.05)>登沙河(0.79 ± 0.03),但是各海区之间没有显著差异($P < 0.05$)。

2.2 不同海区蛤仔血细胞总数比较

不同海区蛤仔血细胞总数的测定结果见图 2。皮口海区蛤仔血细胞总数最高,显著高于庄河和黑石礁海区($P < 0.05$);登沙海区蛤仔血细胞总数居中,庄河和黑石礁海区蛤仔血细胞总数最低,但这 3 个海区无显著差异。

2.3 不同海区蛤仔血细胞膜稳定性比较

不同海区蛤仔血细胞膜稳定性($\Delta\text{OD}_{550}/\text{mg}$ 蛋白质)依次为:登沙河(0.135 ± 0.041)>庄河($0.127 \pm$

0.026)>皮口(0.091 ± 0.017)>黑石礁(0.090 ± 0.004),但各海区蛤仔血细胞膜稳定性没有显著差异($P<0.05$)。

2.4 不同海区蛤仔血细胞吞噬活性比较

不同海区蛤仔血细胞吞噬活性($\times 10^8 \text{mg}^{-1}$ 蛋白质)依次为:登沙河海区(7.88 ± 2.38)>皮口海区(7.42 ± 2.11)>庄河(5.97 ± 1.11)>黑石礁(5.62 ± 0.92),但各海区蛤仔血细胞吞噬活性无显著差异($P<0.05$)。

2.5 不同海区蛤仔血淋巴酚氧化酶活性比较

不同海区蛤仔血淋巴酚氧化酶活性(U/mg 蛋白质)依次为:庄河(277.1 ± 60.3)>登沙河(227.6 ± 58.8)>皮口(217.4 ± 39.9)>黑石礁(184.4 ± 14.8),但各海区蛤仔血淋巴酚氧化酶活性无显著差异($P<0.05$)。

2.6 不同海区蛤仔血淋巴亮氨酸氨基肽酶活性比较

不同海区蛤仔血淋巴亮氨酸氨基肽酶活性测定结果如图3。皮口海区蛤仔血淋巴 LAP 活性显著高于其他3个海区($P<0.05$);登沙河、皮口和黑石礁海区蛤仔血淋巴 LAP 活性无显著差异。

2.7 不同海区蛤仔血淋巴溶菌酶活性比较

不同海区蛤仔血淋巴溶菌酶活性测定结果见图4。皮口海区蛤仔溶菌酶活性显著高于其他3个海区($P<0.05$);登沙河、庄河和黑石礁海区蛤仔血淋巴溶菌酶活性无显著差异。

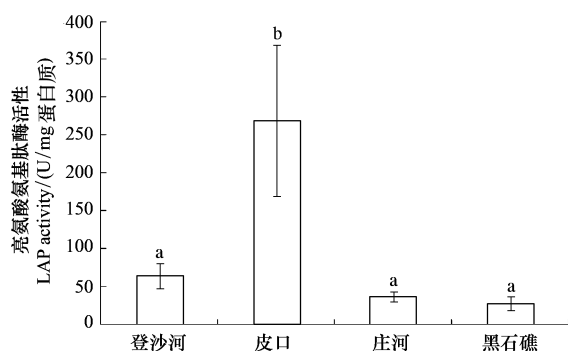


图3 不同海区蛤仔血淋巴 LAP 活性比较

Fig.3 Comparison of the LAP activity of haemolymph in clams collected from different sea areas

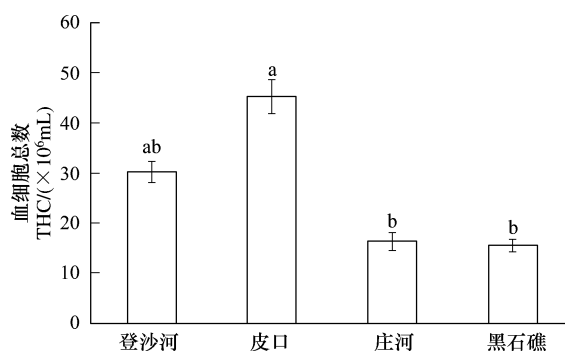


图2 不同海区蛤仔血细胞总数比较

Fig.2 Comparison of the THC of clam collected from different sea areas

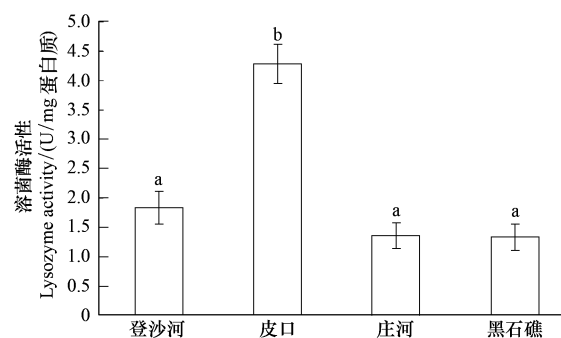


图4 不同海区蛤仔血淋巴溶菌酶活性比较

Fig.4 Comparison of the LYZ activity of haemolymph in clams collected from different sea areas

2.8 不同海区蛤仔血淋巴总谷胱甘肽含量比较

不同海区蛤仔血淋巴总谷胱甘肽含量测定结果如图5。黑石礁海区蛤仔血淋巴谷胱甘肽含量显著高于其他3个海区($P<0.05$);登沙河、皮口和庄河海区血淋巴谷胱甘肽含量无显著差异。

2.9 不同海区蛤仔血淋巴超氧化物歧化酶(SOD)活性比较

不同海区蛤仔血淋巴 SOD 活性测定结果见图6。庄河海区蛤仔血淋巴 SOD 活性最高,登沙河海区蛤仔最低,二者差异显著($P<0.05$);皮口和黑石礁海区蛤仔血淋巴 SOD 活性居中,与其他两个海区蛤仔差异不显著。

2.10 不同海区蛤仔血淋巴细胞脂质氧化比较

不同海区蛤仔血淋巴细胞脂质氧化测定结果见图7。登沙河海区蛤仔血淋巴细胞脂质氧化最高,皮口海区蛤仔最低,二者差异显著($P<0.05$);庄河和黑石礁海区蛤仔居中,与其他两个海区相比无显著差异。

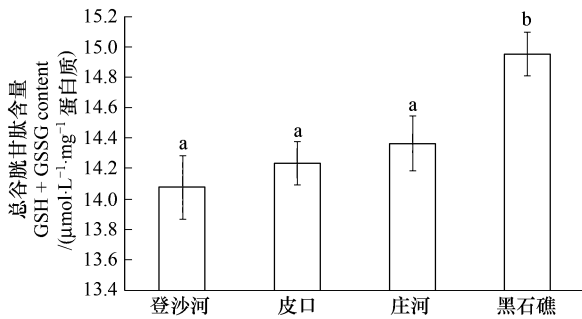


图5 不同海区蛤仔血淋巴总谷胱甘肽含量比较

Fig.5 Comparison of the glutathione content of haemolymph in clams collected from different sea areas

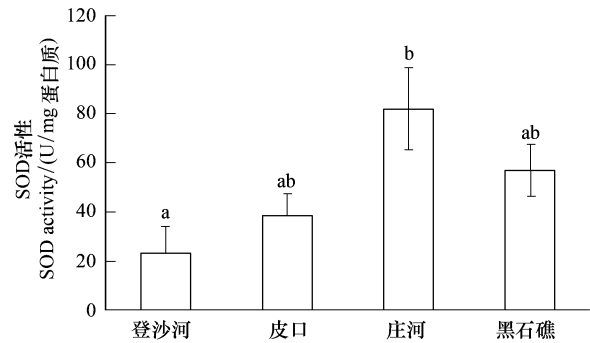


图6 不同海区蛤仔血淋巴 SOD 活性比较

Fig.6 Comparison of the SOD activity of haemolymph in clams collected from different sea areas

3 讨论

贝类的免疫机制主要包括细胞免疫和体液免疫两条途径,其中血细胞是贝类执行细胞免疫功能的最重要的细胞,是无脊椎动物免疫系统的第一道防线,环境因子的变化会对血细胞的免疫能力造成重要影响^[6]。对牡蛎和蛤仔等贝类的研究发现,环境污染物如石油烃和重金属等长期胁迫能够引起其体内血细胞数量减少,原因可能是污染物引起贝类体内含溶酶体丰富的血细胞溶解所致^[7-9]。在本研究中,皮口海区蛤仔的血细胞总数最多,而黑石礁和庄河海区蛤仔血细胞数量最少,从表1可以发现,黑石礁和庄河海区蛤仔体内的Cu等重金属含量均比皮口和登沙河海区高,因此这两个海区血细胞数量的减少可能是重金属长期胁迫的结果。不过一些研究也发现:短时间的污染物刺激可以导致贝类血细胞数量增加^[10-15],对于这些贝类短期内血细胞数量增加的原因,有研究者认为是由于污染物的刺激导致组织血细胞转移进入循环系统所致,也有学者认为是动物机体对污染物引起的血细胞膜稳定性降低的一种补偿机制^[11-13]。因此,环境污染物导致贝类血细胞数量增加还是减少与暴露的时间以及污染物浓度有关^[13]。

通常情况下,短期或者低浓度的污染物如工业废水、农药、重金属刺激被认为具有免疫刺激作用,能够使贝类血细胞的吞噬活性增强^[14-16]。而高浓度污染物或者污染物长期胁迫能够抑制贝类细胞的吞噬能力,原因主要是由于脂溶性污染物如PHA等以及重金属能够与细胞膜结合,改变细胞膜的流动性和细胞膜上离子泵,导致细胞膜稳定性降低,并且能够阻碍血细胞变形运动,降低其吞噬活性^[17-18]。本研究中四个海区蛤仔的细胞膜稳定性和吞噬能力并没有显著地差异,原因可能是海区中的污染物浓度尚未达到对膜稳定性和吞噬能力产生显著影响的阈值^[19],亦可能是贝类细胞对污染物刺激产生适应性的结果^[20]。

当贝类损伤或者受到病原微生物感染时,能够激活体内酚氧化酶原(PPO)生成酚氧化酶(PO),将体内的苯酚氧化成苯醌并最终生成黑色素参与动物的免疫反应^[21]。多种环境污染物能够通过改变贝类血细胞PO的活性而影响其免疫能力,Tujula等发现使用含有机锡(TBT)和Cu的培养基培养72h后,海鞘(*Styela plicata*)血细胞酚氧化酶活性显著降低^[22];Bado-Nilles等人研究证实受到石油污染14d后,牡蛎(*Crassostrea gigas*)血细胞酚氧化酶活性受到抑制^[23];Gagnaire等用Hg处理牡蛎血细胞21h后,其酚氧化酶活性降低^[24]。不过研究发现使用氯化镉(CdCl₂)或者Zn离子处理的鲍鱼血细胞,其酚氧化酶活性却显著升高^[25-26],因此环境污染物对酚氧化酶活性的影响可能与动物及污染物的种类有关^[25]。在本研究中,各海区蛤仔血细胞的酚

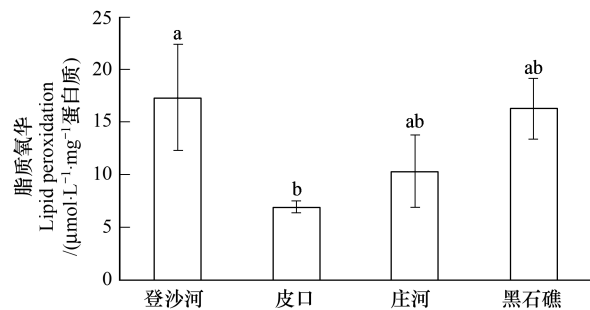


图7 不同海区蛤仔血淋巴脂质氧化比较

Fig.7 Comparison of the lipid peroxidation level of haemolymph in clams collected from different sea areas

氧化酶活性并未表现出显著差异,其原因可能是蛤仔对污染物长期刺激产生适应性的结果。

贝类血细胞溶酶体中含有各种水解酶包括溶菌酶、氨肽酶、酸性磷酸酶、碱性磷酸酶等,当外来异物进入体内或环境发生变化时,这些水解酶可以通过胞内和胞外途径,参与对异物以及病原的杀伤与清除。对牡蛎(*Crassostrea gigas*)和滨螺(*Littorina littorea*)等贝类的调查和研究发现:海水中的有机污染物和重金属等能够导致贝类血淋巴溶菌酶活性降低,并且这种活性的降低与血细胞总数之间存在相关性^[13, 27-28]。污染物可能通过以下两条途径导致细胞体内水解酶活性降低:一是由于污染物造成的血细胞溶解导致;另一个可能的原因是污染物改变贝类血细胞内溶酶体膜通透性,一些水解酶渗漏所致^[29]。在本研究中,登沙河、庄河和黑石礁海区蛤仔血细胞的亮氨酸氨基肽酶和溶菌酶活性显著低于皮口海区,与这 3 个海区环境中较高的污染物浓度可能有直接的关系。

研究证实,当受到环境胁迫时,贝类能够通过呼吸爆发作用产生大量活性氧,帮助机体清除进入体内的病原,但过量的活性氧会导致动物体内细胞膜的脂质氧化程度增加,因此贝类体内抗氧化系统会被激活,避免活性氧对细胞造成损伤^[28, 30-32]。在本研究中,登沙河海区的蛤仔血细胞谷胱甘肽含量在 4 个海区中处于较低水平,并且其 SOD 活性最低,表明其抗氧化能力受到抑制,因此其细胞膜的脂质氧化程度最大,这一结论与上述研究的结果相一致。但人们也发现:黑石礁海区蛤仔血细胞谷胱甘肽含量最高,而庄河海区的蛤仔血细胞具有最高的 SOD 活性,但是这两个海区蛤仔的血细胞脂质氧化水平仍然处于较高水平。观察这两个海区蛤仔体内的污染物检测结果(表 1)发现:其体内重金属含量远高于其他两个海区的蛤仔,并且黑石礁海区蛤仔体内的石油污染物水平在 4 个海区中也处于较高水平。谷胱甘肽除作为一种重要的细胞抗氧化成分,其本身也是体内一些催化解毒和污染物代谢反应的酶作用后的产物^[33],因此这两个海区蛤仔血细胞较高的谷胱甘肽水平可能是个体对长时间较高浓度污染物刺激的一种保护性反应。此外有研究证实长期的污染物刺激能够导致贻贝(*Mytilus edulis*)体内活性氧如 H_2O_2 和 NO 等含量增加,推测可能是对其血细胞吞噬能力降低的一种补偿机制^[34],因此黑石礁和庄河海区蛤仔血淋巴较高的 SOD 水平可能与其血细胞较低的吞噬活性有关。

综上所述,养殖水环境中的重金属和石油等有机污染物胁迫能诱导蛤仔产生免疫抑制并导致其抗病能力的降低,加之夏季高温环境细菌大量繁殖是导致蛤仔大规模死亡的重要诱因。因此,减少养殖海区环境污染,净化养殖环境,是防止蛤仔疾病爆发的有效途径。

References:

- [1] Xue C B, Wang G L, Jin S. Review on the culture environment of the marine intertidal shellfish. *Ecology and Environment*, 2004, 13(1): 116-118.
- [2] Hannam M L, Bamber S D, Moody J A, Galloway T S, Jones M B. Immune function in the Arctic Scallop, *Chlamys islandica*, following dispersed oil exposure. *Aquatic Toxicology*. 2009, 92(3): 187-194.
- [3] Zhang Q, Ma H, Mai K, Zhang W, Liufu Z G, Xu W. Interaction of dietary *Bacillus subtilis* and fructooligosaccharide on the growth performance, non-specific immunity of sea cucumber, *Apostichopus japonicus*. *Fish & Shellfish Immunology*, 2010, 29(2): 204-211.
- [4] Oubella R, Paillard C, Maes P, Auffret M. Changes in hemolymph parameters in the Manila clam *Ruditapes philippinarum* (Mollusca, Bivalvia) following bacterial challenge. *Journal of Invertebrate Pathology*, 1994, 64(1): 33-38.
- [5] Allam B, Paillard C. Defense factors in clam extrapallial fluids. *Diseases of Aquatic Organisms*, 1998, 33(2): 123-128.
- [6] Cheng T. Bivalves: Invertebrate Blood Cells. New York: Invertebrate Blood, 1981: 233-300.
- [7] McCormick-Ray M G. Hemocytes of *Mytilus edulis* affected by Prudhoe Bay crude oil emulsion. *Marine Environmental Research*, 1987, 22(2): 107-122.
- [8] Jeong W G, Cho S M. Effects of polynuclear aromatic hydrocarbons on hemocyte characteristics of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. *Journal of Shellfish Research*, 2005, 24(2): 451-456.
- [9] Fisher W S, Oliver L M, Winstead J T, Long E R. A survey of oysters *Crassostrea virginica* from Tampa Bay, Florida: associations of internal defense measurements with contaminant burdens. *Aquatic Toxicology*, 2000, 51(1): 115-138.
- [10] Auffret M, Duchemin M, Rousseau S, Boutet I, Tanguy A, Moraga D, Marhic A. Monitoring of immunotoxic responses in oysters reared in areas contaminated by the "Erika" oil spill. *Aquatic Living Resources*, 2004, 17(3): 297-302.
- [11] Auffret M. Bivalves as models for marine immunotoxicology // Tryphonas H, Fournier M, Blakley B R, Smits J E G, Brousseau P, eds. *Investigative Immunotoxicology: Models and Approaches in Immunotoxicology*. Boca Raton: CRC Press, 2005: 29-48.

- [12] Pipe R K, Coles J A, Carissan F M M, Ramanathan K. Copper induced immunomodulation in the marine mussel, *Mytilus edulis*. *Aquatic Toxicology*, 1999, 46(1): 43-54.
- [13] Hannam M L, Bamber S, John Moody A, Galloway T, Jones M. Immunotoxicity and oxidative stress in the Arctic scallop *Chlamys islandica*: Effects of acute oil exposure. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2010, 73(6): 1440-1448.
- [14] Hannam M L, Bamber S D, Sundt R C, Galloway T S. Immune modulation in the blue mussel *Mytilus edulis* exposed to North Sea produced water. *Environmental Pollution*, 2009, 157(6): 1939-1944.
- [15] Rickwood C J, Galloway T S. Acetylcholinesterase inhibition as a biomarker of adverse effect: a study of *Mytilus edulis* exposed to the priority pollutant chlorfenvinphos. *Aquatic Toxicology*, 2004, 67(1): 45-56.
- [16] Sauv   S, Brousseau P, Pellerin J, Morin Y, Sen  cal L, Goudreau P, Fournier M. Phagocytic activity of marine and freshwater bivalves; *in vitro* exposure of hemocytes to metals (Ag, Cd, Hg and Zn). *Aquatic Toxicology*, 2002, 58(3/4): 189-200.
- [17] Camus L, Jones M, B  rseth J, Gr  svik B, Regoli F, Depledge M. Total oxyradical scavenging capacity and cell membrane stability of haemocytes of the Arctic scallop, *Chlamys islandicus*, following benzo (a) pyrene exposure. *Marine Environmental Research*, 2002, 54(3): 425-430.
- [18] Grundy M, Moore M, Howell S, Ratcliffe N. Phagocytic reduction and effects on lysosomal membranes by polycyclic aromatic hydrocarbons, in haemocytes of *Mytilus edulis*. *Aquatic Toxicology*, 1996, 34(4): 273-290.
- [19] Ahmad I, Coelho J P, Mohmood I, Pacheco M, Santos M A, Duarte A C, Pereira E. Immunosuppression in the infaunal bivalve *Scrobicularia plana* environmentally exposed to mercury and association with its accumulation. *Chemosphere*, 2011, 82(11): 1541-1546.
- [20] Oliver L M, Fisher W S, Winstead J T, Hemmer B L, Long E R. Relationships between tissue contaminants and defense-related characteristics of oysters (*Crassostrea virginica*) from five Florida bays. *Aquatic Toxicology*, 2001, 55(3): 203-222.
- [21] Cerenius L, S  derh  ll K. The phenoloxidase-activating system in invertebrates. *Immunological Reviews*, 2004, 198(1): 116-126.
- [22] Tujula N, Radford J, Nair S V, Raftos D A. Effects of tributyltin and other metals on the phenoloxidase activating system of the tunicate, *Styela plicata*. *Aquatic Toxicology*, 2001, 55(3): 191-201.
- [23] Bado-Nilles A, Quentel C, Auffret M, Le Floch S, Gagnaire B, Renault T, Thomas-Guyon H. Immune effects of HFO on European sea bass, *Dicentrarchus labrax*, and Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2009, 72(5): 1446-1454.
- [24] Gagnaire B, Thomas-Guyon H, Renault T. In vitro effects of cadmium and mercury on Pacific oyster, *Crassostrea gigas* (Thunberg), haemocytes. *Fish & Shellfish Immunology*, 2004, 16(4): 501-512.
- [25] Latire T, Le Pabic C, Mottin E, Mottier A, Costil K, Koueta N, Lebel J M, Serpentine A. Responses of primary cultured haemocytes from the marine gastropod *Haliotis tuberculata* under 10-day exposure to cadmium chloride. *Aquatic Toxicology*, 2011, 109: 213-221.
- [26] Mottin E, Caplat C, Mahaut M L, Costil K, Barillier D, Lebel J M, Serpentine A. Effect of *in vitro* exposure to zinc on immunological parameters of haemocytes from the marine gastropod *Haliotis tuberculata*. *Fish & Shellfish Immunology*, 2010, 29(5): 846-853.
- [27] Mazon L, Gonzalez G, Vicario A, Estomba A, Aguirre A. Inhibition of esterases in the marine gastropod *Littorina littorea* exposed to cadmium. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 1998, 41(3): 284-287.
- [28] Gagn   F, Auclair J, Turcotte P, Fournier M, Gagnon C, Sauv   S, Blaise C. Ecotoxicity of CdTe quantum dots to freshwater mussels: Impacts on immune system, oxidative stress and genotoxicity. *Aquatic Toxicology*, 2008, 86(3): 333-340.
- [29] Lowe D, Moore M, Evans B. Contaminant impact on interactions of molecular probes with lysosomes in living hepatocytes from dab *Limanda limanda*. *Marine Ecology Progress Series* Oldendorf, 1992, 91(1): 135-140.
- [30] Koutsogiannaki S, Evangelinos N, Koliakos G, Kaloyianni M. Cytotoxic mechanisms of Zn^{2+} and Cd^{2+} involve Na^+/H^+ exchanger (NHE) activation by ROS. *Aquatic Toxicology*, 2006, 78(4): 315-324.
- [31] Luna-Acosta A, Kanan R, Le Floch S, Huet V, Pineau P, Bustamante P, Thomas-Guyon H. Enhanced immunological and detoxification responses in Pacific oysters, *Crassostrea gigas*, exposed to chemically dispersed oil. *Water Research*, 2011, 45(14): 4130-4118.
- [32] Canesi L, Viarengo A, Leonzio C, Filippelli M, Gallo G. Heavy metals and glutathione metabolism in mussel tissues. *Aquatic Toxicology*, 1999, 46(1): 67-76.
- [33] Regoli F, Principato G. Glutathione, glutathione-dependent and antioxidant enzymes in mussel, *Mytilus galloprovincialis*, exposed to metals under field and laboratory conditions: implications for the use of biochemical biomarkers. *Aquatic Toxicology*, 1995, 31(2): 143-164.
- [34] Akaishi F M, St-Jean S D, Bishay F, Clarke J, da S Rabitto I, de Oliveira Ribeiro C A. Immunological responses, histopathological finding and disease resistance of blue mussel (*Mytilus edulis*) exposed to treated and untreated municipal wastewater. *Aquatic Toxicology*, 2007, 82(1): 1-14.

参考文献:

- [1] 薛超波, 王国良, 金珊. 海洋滩涂贝类养殖环境的研究现状. *生态环境*, 2004, 13(1): 116-118.

ACTA ECOLOGICA SINICA Vol. 33, No. 17 Sep. ,2013 (Semimonthly)

CONTENTS

Frontiers and Comprehensive Review

- The overview and prospect of chemical composition of plant cuticular wax ZENG Qiong, LIU Dechun, LIU Yong (5133)
- Research progresses in carbon budget and carbon cycle of the coastal salt marshes in China
..... CAO Lei, SONG Jinming, LI Xuegang, et al (5141)

Autecology & Fundamentals

- Effects of straw interlayer on soil water and salt movement and sunflower photosynthetic characteristics in saline-alkali soils
..... ZHAO Yonggan, PANG Huancheng, LI Yuyi, et al (5153)
- Adaptations of dimorphic seeds and seedlings of *Suaeda salsa* to saline environments
..... LIU Yan, ZHOU Jiachao, ZHANG Xiaodong, et al (5162)
- Responses of root morphology of peanut varieties differing in drought tolerance to water-deficient stress
..... DING Hong, ZHANG Zhimeng, DAI Liangxiang, et al (5169)
- The relationship between physiological indexes of apple cultivars and resistance to *Eriosoma lanigerum* in summer
..... WANG Xicun, ZHOU Hongxu, YU Yi, et al (5177)
- Physiological responses of *Salicornia bigelovii* to salt stress during the flowering stage
..... LIU Weicheng, ZHENG Chunfang, CHEN Chen, et al (5184)
- Biological characteristics and cultivation of fruit body of wild medicinal mushroom *Perenniporia fraxinea*
..... LU Tie, BAU Tolgor (5194)
- The study of characteristics of soil microbial communities at high severity burned forest sites for the Great Xingan Mountains: an
example of slope and aspect BAI Aiqin, FU Bojie, QU Laiye, et al (5201)
- Effect of different fertilizer combinations and straw return on microbial biomass and nitrogen-fixing bacteria community in a paddy
soil LIU Xiaoqian, TU Shihua, SUN Xifa, et al (5210)
- Structural characters and nutrient contents of leaves as well as nitrogen distribution among different organs of big-headed wheat
..... WANG Lifang, WANG Dexuan, SHANGGUAN Zhouping (5219)
- Effects of EP-1 on spatial memory and anxiety in *Mus musculus* WANG Xiaojia, QIN Tingting, HU Xia, et al (5228)

Population, Community and Ecosystem

- Gap characteristics in the mixed broad-leaved Korean pine forest in Xiaoxing'an Mountains
..... LIU Shaochong, WANG Jinghua, DUAN Wenbiao, et al (5234)
- Soil nitrogen and phosphorus stoichiometry in a degradation series of *Kobresia humilis* meadows in the Tibetan Plateau
..... LIN Li, LI Yikang, ZHANG Fawei, DU Yangong, et al (5245)
- An analysis of carbon flux partition differences of a mid-subtropical planted coniferous forest in southeastern China
..... HUANG Kun, WANG Shaoqiang, WANG Huimin, et al (5252)
- The niche of annual mixed-seeding meadow in response to density in alpine region of the Qilian Mountain, China
..... ZHAO Chengzhang, ZHANG Jing, SHENG Yaping (5266)
- Functional feeding groups of macrozoobenthos from coastal water off Rushan PENG Songyao, LI Xinzhen (5274)

Landscape, Regional and Global Ecology

- Effects of selective cutting on vegetation carbon storage of boreal *Larix gmelinii*-*Carex schmidtii* forested wetlands in Daxing'anling,
China MU Changcheng, LU Huicui, BAO Xu, et al (5286)
- CO₂ flux in the upland field with corn-rape seed rotation in the karst area of southwest China
..... FANG Bin, LI Xinqing, CHENG Jianzhong, et al (5299)
- Monitoring spatial variability of soil salinity in dry and wet seasons in the North Tarim Basin using remote sensing and electromagn-
etic induction instruments YAO Yuan, DING Jianli, LEI Lei, et al (5308)
- Methane and nitrous oxide fluxes in temperate secondary forest and larch plantation in Northeastern China
..... SUN Hailong, ZHANG Yandong, WU Shiyi (5320)
- Butterfly diversity and vertical distribution in eastern Tianshan Mountain in Xinjiang
..... ZHANG Xin, HU Hongying, LÜ Zhaozhi (5329)

- Dynamics of aerodynamic parameters over a rainfed maize agroecosystem and their relationships with controlling factors CAI Fu, ZHOU Guangsheng, MING Huiqing, et al (5339)
- The response process to extreme climate events of the household compound system in the northern slope of Tianshan Mountain LI Xiliang, HOU Xiangyang, DING Yong, et al (5353)
- Analysis on spatial-temporal heterogeneities of landscape fragmentation in urban fringe area; a case study in Shunyi district of Beijing LI Can, ZHANG Fengrong, ZHU Taifeng, et al (5363)
- Resource and Industrial Ecology**
- CPUE Standardization of *Illex argentinus* for Chinese Mainland squid-jigging fishery based on generalized linear Bayesian models LU Huajie, CHEN Xinjun, CAO Jie (5375)
- Spatial-temporal differentiation of water quality in Gufu River of Three Gorges Reservoir RAN Guihua, GE Jiwen, MIAO Wenjie, et al (5385)
- Urban, Rural and Social Ecology**
- Comparison environmental impact of the peasant household in han, zang and hui nationality region; case of zhangye, Gannan and Linxia in Gansu Province ZHAO Xueyan, MAO Xiaowen (5397)
- Research Notes**
- The seasonal variation and community structure of zooplankton in China sea DU Mingmin, LIU Zhensheng, WANG Chunsheng, et al (5407)
- Immunotoxicity of marine pollutants on the clam *Ruditapes philippinarum* DING Jianfeng, YAN Xiwu, ZHAO Liqiang, et al (5419)
- Influence of submerged macrophytes on phosphorus transference between sediment and overlying water in decomposition period WANG Lizhi, WANG Guoxiang (5426)
- Distribution patterns of alien herbs in the Yiluo River basin GUO Yili, DING Shengyan, SU Si, et al (5438)

《生态学报》2013 年征订启事

《生态学报》是由中国科学技术协会主管,中国生态学学会、中国科学院生态环境研究中心主办的生态学高级专业学术期刊,创刊于 1981 年,报道生态学领域前沿理论和原始创新性研究成果。坚持“百花齐放,百家争鸣”的方针,依靠和团结广大生态学科工作者,探索生态学奥秘,为生态学基础理论研究搭建交流平台,促进生态学研究深入发展,为我国培养和造就生态学科人才和知识创新服务、为国民经济建设和发展服务。

《生态学报》主要报道生态学及各分支学科的重要基础理论和应用研究的原始创新性科研成果。特别欢迎能反映现代生态学发展方向的优秀综述性文章;研究简报;生态学新理论、新方法、新技术介绍;新书评价和学术、科研动态及开放实验室介绍等。

《生态学报》为半月刊,大 16 开本,300 页,国内定价 90 元/册,全年定价 2160 元。

国内邮发代号:82-7,国外邮发代号:M670

标准刊号:ISSN 1000-0933 CN 11-2031/Q

全国各地邮局均可订阅,也可直接与编辑部联系购买。欢迎广大科技工作者、科研单位、高等院校、图书馆等订阅。

通讯地址:100085 北京海淀区双清路 18 号 电 话:(010)62941099; 62843362

E-mail: shengtaixuebao@rcees.ac.cn 网 址: www.ecologica.cn

本期责任副主编 张利权

编辑部主任 孔红梅

执行编辑 刘天星 段 靖

生 态 学 报

(SHENGTAI XUEBAO)

(半月刊 1981 年 3 月创刊)

第 33 卷 第 17 期 (2013 年 9 月)

ACTA ECOLOGICA SINICA

(Semimonthly, Started in 1981)

Vol. 33 No. 17 (September, 2013)

编 辑	《生态学报》编辑部 地址:北京海淀区双清路 18 号 邮政编码:100085 电话:(010)62941099 www.ecologica.cn shengtaixuebao@rcees.ac.cn	Edited by	Editorial board of ACTA ECOLOGICA SINICA Add:18, Shuangqing Street, Haidian, Beijing 100085, China Tel:(010)62941099 www.ecologica.cn shengtaixuebao@rcees.ac.cn
主 编	王如松	Editor-in-chief	WANG Rusong
主 管	中国科学技术协会	Supervised by	China Association for Science and Technology
主 办	中国生态学学会 中国科学院生态环境研究中心 地址:北京海淀区双清路 18 号 邮政编码:100085	Sponsored by	Ecological Society of China Research Center for Eco-environmental Sciences, CAS Add:18, Shuangqing Street, Haidian, Beijing 100085, China
出 版	科 学 出 版 社 地址:北京东黄城根北街 16 号 邮政编码:100717	Published by	Science Press Add:16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 100717, China
印 刷	北京北林印刷厂	Printed by	Beijing Bei Lin Printing House, Beijing 100083, China
发 行	科 学 出 版 社 地址:东黄城根北街 16 号 邮政编码:100717 电话:(010)64034563 E-mail:journal@cspg.net	Distributed by	Science Press Add:16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 100717, China Tel:(010)64034563 E-mail:journal@cspg.net
订 购	全国各地邮局	Domestic	All Local Post Offices in China
国外发行	中国国际图书贸易总公司 地址:北京 399 信箱 邮政编码:100044	Foreign	China International Book Trading Corporation Add:P. O. Box 399 Beijing 100044, China
广告经营 许 可 证	京海工商广字第 8013 号		



ISSN 1000-0933
CN 11-2031/Q

国内外公开发行

国内邮发代号 82-7

国外发行代号 M670

定价 90.00 元