

洪宇航. 草甘膦对中华绒螯蟹成蟹主要免疫指标的影响[J]. 江苏农业科学, 2018, 46(12): 136–140.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.12.033

草甘膦对中华绒螯蟹成蟹主要免疫指标的影响

洪宇航

(西昌学院动物科学学院, 四川西昌 615000)

摘要:草甘膦作为广谱灭生性除草剂, 目前在我国已被广泛使用。但养殖水体用药对于水生动物, 特别是经济类甲壳动物的影响却鲜有报道。因此, 通过测定分别在草甘膦 0、1.90、4.10、6.30、8.50、10.70 mg/L 浓度下, 中华绒螯蟹成蟹总血细胞密度 (THC)、血清中血蓝蛋白含量、酚氧化酶 (PO) 活性、酸性磷酸酶 (ACP) 活性以及碱性磷酸酶 (AKP) 活性 5 项重要免疫指标的变化情况, 研究草甘膦对于中华绒螯蟹成蟹免疫功能的影响。结果表明, 中华绒螯蟹成蟹对草甘膦耐受力强于幼蟹, 10.70 mg/L 组 48 h 死亡率仅有 13.3%。草甘膦各浓度组 THC 在试验过程中均有上升, 其中 8.50 mg/L 组上升幅度最大, 并于 6 h 达到峰值, 显著高于空白组; 而 10.70 mg/L 组在 24 h 后有所下降, 至 48 h 显著低于其他 5 组。血清中血蓝蛋白含量出现明显下降, 且随着浓度增高下降越明显, 其中 8.50 mg/L 组至 12 h 降至最低水平。PO 活性各组均有所上升, 随后回落; 10.70 mg/L 组上升最为明显, 3 h 升至最高值, 显著高于其他各组。ACP 活性低浓度组出现略微上升, 而高浓度组出现下降; AKP 活性则各浓度组均出现下降, 且随着浓度升高愈加明显。上述结果表明, 草甘膦可以显著影响中华绒螯蟹免疫指标, 且随着浓度升高影响越为明显。在非致死浓度下, 草甘膦可以引起中华绒螯蟹免疫应激, 部分免疫功能下降。因此, 建议草甘膦在中华绒螯蟹养殖水体中应避免使用。

关键词:中华绒螯蟹成蟹; 草甘膦; THC; 血蓝蛋白; ACP 活性; AKP 活性; PO 活性

中图分类号: X592 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2018)12-0136-04

中华绒螯蟹 (*Eriocheir sinensis*) 又称河蟹、大闸蟹, 味道鲜美, 营养丰富, 是我国特有的淡水养殖蟹类, 具有较高的经济价值。随着养殖年份的增加, 养殖模式更加多元化, 其中种养结合的养殖模式已在长江流域、辽河流域大面积推广^[1]。稻田养蟹是一种高效又经济的立体生态种养技术模式, 把水稻种植业和水产养殖业有效地结合起来, 发挥各自的积极作用, 充分利用整个系统的物质和能量, 以获得水稻、河蟹双丰收^[2]。稻田养蟹技术从开发推广至今已有 30 多年历程, 但是一直存在着水稻施药与河蟹增产的矛盾^[3]。草甘膦是美国孟山都公司研发生产的一种高效广谱灭生性除草剂, 由于其水溶性好, 效果快, 目前在世界各国被普遍使用于农田、果园、养殖水体中的杂草清除, 主要通过直接喷洒或地表径流影响附近水体水生生物^[4]。目前, 国内外已有较多关于草甘膦对水生生物安全的研究报道, 如对于藻类、水蚤、鱼类以及虾蟹类等^[5-7], 但其对于甲壳类动物的毒性作用却少见报道, 对我国重要的淡水经济养殖种类——中华绒螯蟹的影响的报道仅有 1 例, 其主要探究了草甘膦对于中华绒螯蟹幼蟹的毒性^[8], 而针对成蟹的研究尚未见报道。

因此, 本试验通过设置不同浓度梯度草甘膦水体, 研究其对中华绒螯蟹成蟹主要免疫指标, 包括总血细胞密度 (THC)、血清中血蓝蛋白含量、酚氧化酶 (PO) 活性、酸性磷酸酶 (ACP) 活性、碱性磷酸酶 (AKP) 活性的影响, 初步探究草甘膦胁迫下

中华绒螯蟹成蟹的免疫应答情况, 从而为草甘膦在稻蟹种养及常规养殖池塘除草过程中的使用提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 材料

本试验动物中华绒螯蟹成蟹采自江苏省金坛市水产技术推广站养殖场。试验于 2016 年 9 月至 11 月在西昌学院动物科学学院进行。试验前在循环水养殖系统中暂养 7 d 以上, 24 h 气泵增氧, 每日 2 次投喂人工配合饲料。挑选身体健康、大小均匀的中华绒螯蟹用于试验, 雌雄各占 50%, 平均质量 (107 ± 13.45) g。将中华绒螯蟹随机放入 125 cm × 60 cm × 60 cm 水族缸箱中, 每箱 10 只, 箱中加入经曝气 1 d 以上的自来水 50 L, 箱底放置经消毒处理的 PVC 管作为遮蔽物。光暗周期 12 h : 12 h, 试验期间每日 09:00 至 19:00 投喂人工配合饲料, 并于投喂后 3 h 检查吃食情况, 清理粪便和残饵。试验期间每日测定水质指标, 保证水温 (20 ± 2) °C、pH 值 7.2 ~ 7.8、溶氧量 > 5 mg/L、氨态氮含量 < 0.5 mg/L、亚硝酸盐含量 < 0.15 mg/L。

1.2 浓度梯度设计

草甘膦异丙胺盐药剂 (有效成分 41%), 购自浙江省美丰农化有限公司。参考草甘膦在中华绒螯蟹幼蟹毒性试验中的浓度^[8]和其他水生动物毒性试验中的浓度^[5-7], 以及草甘膦在稻田水体中的残留和消解情况^[5], 设置 1.90、4.10、6.30、8.50、10.70 mg/L 5 个浓度组以及 1 个 0 mg/L 空白对照组。每组中华绒螯蟹 30 只, 设置 3 个平行, 分别放置于 3 个水族缸箱中。试验采用 48 h 半静水法, 每 12 h 换水 1 次, 并配置相同浓度草甘膦溶液以保证试验水体浓度不变。分别于 3、6、12、24、48 h 观察并记录中华绒螯蟹的存活情况, 每组任意取

收稿日期: 2016-12-28

基金项目: 四川省科技厅基础科研项目 (编号: 2014JY0021)。

作者简介: 洪宇航 (1987—), 男, 四川宜宾人, 硕士, 助教, 主要从事甲壳动物生理与免疫方向的研究。E-mail: hongyuhang1987@126.com。

5 只蟹取血淋巴用于免疫指标的检测。

1.3 分析测定

1.3.1 存活率测定 试验开始后 3、6、12、24、48 h 观察中华绒螯蟹存活情况,以触碰眼柄无反应,捞出后 1 min 仍无活动能力判定为死亡。观察每个观察点并记录。

1.3.2 THC 测定 每个观察点取中华绒螯蟹,第 5 步足基膜处抽取血淋巴 100 μL ,加入等量抗凝剂(0.1 mol/L 葡萄糖、0.14 mol/L 氯化钠、30 mmol/L 柠檬酸、10 mmol/L EDTA、pH 值=4.6)混匀,立即采用血球计数板进行血细胞计数,每个样品计数 3 次,取平均值。

1.3.3 血蓝蛋白浓度检测 每个观察点取中华绒螯蟹,尽可能多抽取血淋巴至 2 mL 离心管,立即放置于 $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱 4 h 以上。11 000 r/min $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 高速冷冻离心 30 min,用移液枪小心取上清(血清)于 2 mL 离心管中, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存备用。血蓝蛋白含量的测定参考章跃陵等的方法^[9]进行改良,用血蓝蛋白稀释液(50 mmol/L Tris-HCl、10 mmol/L CaCl_2 , pH 值=8.0)对中华绒螯蟹血清进行 100 倍稀释,分光光度计测定 334 nm 下吸光度,根据 Lambert-Beer 定律,血蓝蛋白浓度: $C = D / (EL)$ (D 为吸光度、 E 为消光系数、 L 为比色皿厚度),本试验采用 1 cm 比色皿,按 $E_{334\text{nm}} = 2.3\text{ nm}$ 计算血蓝蛋白浓度(mg/mL)。

1.3.4 PO 活性测定 血清制备方法同“1.3.3”节,PO 活性的测定参考 Ashida 的方法^[10],将 50 μL 3 g/L L-dopa、50 μL 血清以及 50 μL PBS 缓冲液(0.1 mol/L、pH 值 7.0)加入 96 孔板中,在室温下混匀孵育 20 min,490 nm 波长下读取起始和 10 min 时的吸光度($D_{490\text{nm}}$),以 10 min 内每分钟吸光度增加 0.001 为 1 个酶活力单位(U)计算。

1.3.5 ACP 活性测定 血清制备方法同“1.3.3”节,ACP 活性测定方法遵照 ACP 活性检测试剂盒说明书(江苏南京建成生物科技有限公司),使用 Bio-Rad iMark 酶标仪在 520 nm

波长下测定 96 孔板各孔吸光度,以每 100 mL 血清在 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 与基质作用 30 min 产生 1 mg 酚为 1 个金氏单位。酶活性最终数据统一换算为国际单位(U/L)。

1.3.6 AKP 活性测定 血清制备方法同“1.3.3”节,AKP 活性测定方法遵照 AKP 活性检测试剂盒说明书(江苏南京建成生物科技有限公司),使用 Bio-Rad iMark 酶标仪在 520 nm 波长下测定 96 孔板各孔吸光度,以每 100 mL 血清在 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 与基质作用 15 min 产生 1 mg 酚为 1 个金氏单位。酶活性最终数据统一换算为国际单位(U/L)。

1.4 数据分析

采用 SPSS V13.0 软件对试验数据进行统计分析,用 Levene 法进行方差齐性检验,不满足齐性方差时对数据进行反正弦或者平方根处理,采用 ANOVA 对试验结果进行方差分析,采用 Tukey's 法进行多重比较,在 GraphPad Prism 5 上绘制相关图表。

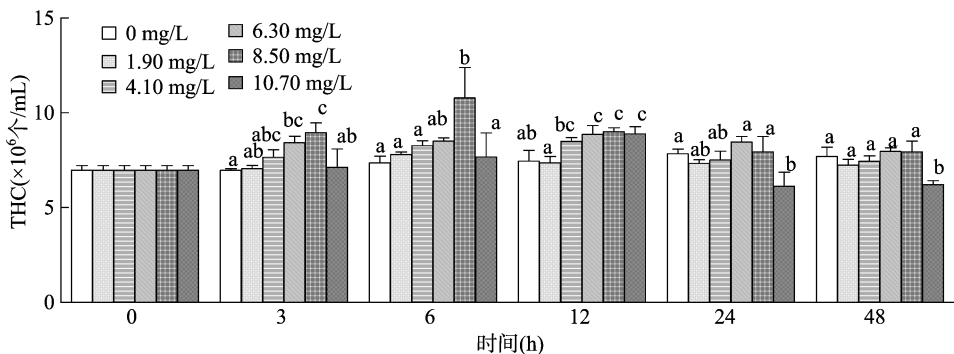
2 结果与分析

2.1 草甘膦对中华绒螯蟹成蟹存活的影响

试验期间,除最高浓度 10.70 mg/L 组外,其他各组均未出现死亡现象。10.70 mg/L 组在 24 h 出现 1 只死亡,48 h 出现 3 只死亡,48 h 死亡率仅为 13.3%

2.2 草甘膦对中华绒螯蟹成蟹 THC 的影响

从图 1 可以看出,中华绒螯蟹成蟹 THC 正常值约为 $(6.98 \pm 0.24) \times 10^6$ 个/mL,各组 THC 随着攻毒时间延长而上升,且有随着浓度提高增加幅度加大的趋势,随后各组均有所恢复。其中 8.50 mg/L 组增长幅度最大,并于 6 h 达到峰值,显著高于其他各组。10.70 mg/L 组 THC 最初也有所上升,并在 12 h 达到最大值,但在 24 h 时出现了下降的情况,并低于 0 h 正常水平,在 48 h 显著低于其他各组。



不同小写字母表示组间差异显著($P < 0.05$)。图2至图5同

图1 不同浓度草甘膦下中华绒螯蟹 THC 的变化

2.3 草甘膦对中华绒螯蟹血清血蓝蛋白含量的影响

从图 2 可以看出,随着接触时间的延长,不同浓度草甘膦各组血清血蓝蛋白浓度均出现先下降再恢复回升的趋势。且随着浓度的增加,下降趋势越明显。其中 8.50 mg/L 组下降最多,在 12 h 达到最低值。在 6、12 h,8.50、10.70 mg/L 组血蓝蛋白水平均显著低于其他 4 组。至 48 h 1.90、4.10 mg/L 组基本恢复到正常水平,与空白组差异不显著,而其他 3 组均显著低于空白组。

2.4 草甘膦对中华绒螯蟹血清 PO 活性的影响

从图 3 可以看出,各浓度组血清 PO 活性均有所上升。

其中最高浓度 10.70 mg/L 组上升最为明显,在 3 h 时即达到最大值,约为 0 h 正常水平的 3.7 倍,显著高于其他各组;随后有所下降,但在 6 h 仍显著高于其他各组;在 12 h 时有明显下降,随后继续下降,至 48 h 仍显著高于空白组。相比之下,低浓度组变化幅度不大,除 12 h 外,其他各组在各时间点均同空白组无显著性差异。

2.5 草甘膦对中华绒螯蟹血清 ACP 活性的影响

各浓度组血清 ACP 活性随着试验时间延长而下降,其中 10.70 mg/L 较其他组下降最为明显,12 h 时降至最低值,且在试验后不同时间段均显著低于其他各组。8.50 mg/L 组下

降幅度其次,3 h 时并未有明显下降,至 6 h 较前 3 组显著降低,此后有所恢复。而 1.90 mg/L 组 ACP 活性起初虽有减

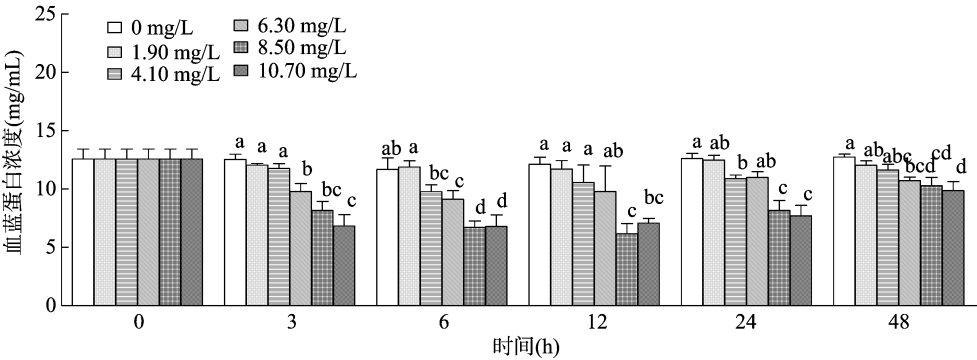


图2 不同浓度草甘膦下中华绒螯蟹血蓝蛋白浓度的变化

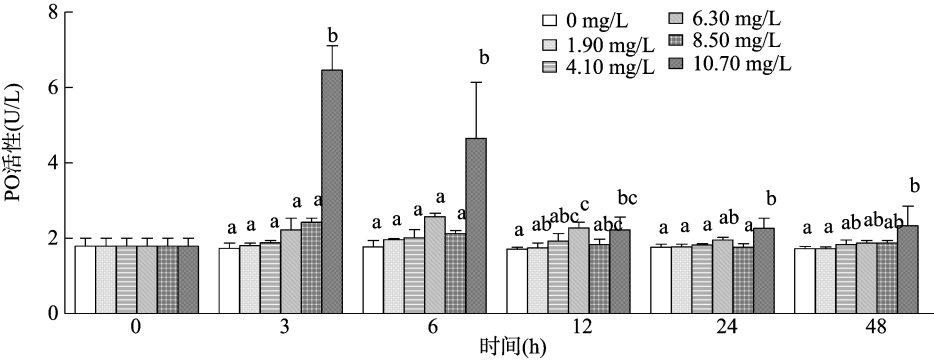


图3 不同浓度草甘膦下中华绒螯蟹血清 PO 活性的变化

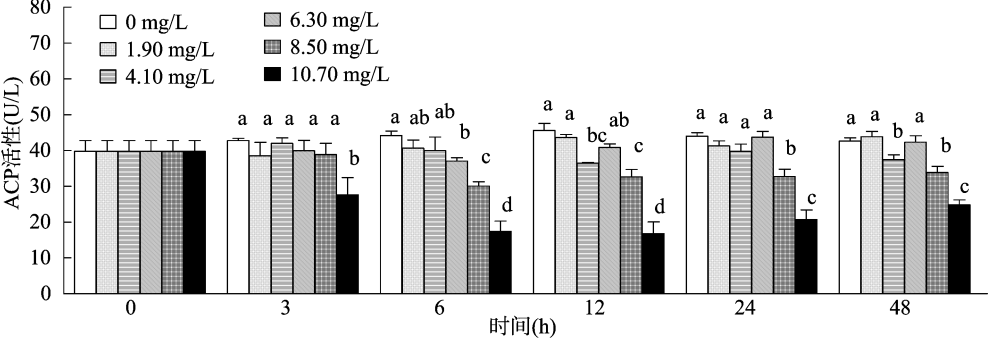


图4 不同浓度草甘膦下中华绒螯蟹血清 ACP 活性的变化

2.6 草甘膦对中华绒螯蟹血清 AKP 活性的影响

各浓度组 AKP 活性均呈下降趋势,特别是 8.50、10.70 mg/L 组,在 3 h 检测时便有明显下降,显著低于对照组以及其他 3 个浓度组;10.70 mg/L 组在 6 h 时降至最低水平,仅有(18.42 ± 2.14) U/L,并在各检测时间点均显著低于空

白组及低浓度组(图 5)。

3 讨论与结论

近年来,草甘膦作为常用广谱灭生性除草剂,在国内被广泛使用,包括稻蟹共作的稻田以及空心莲子草和水葫芦丛生

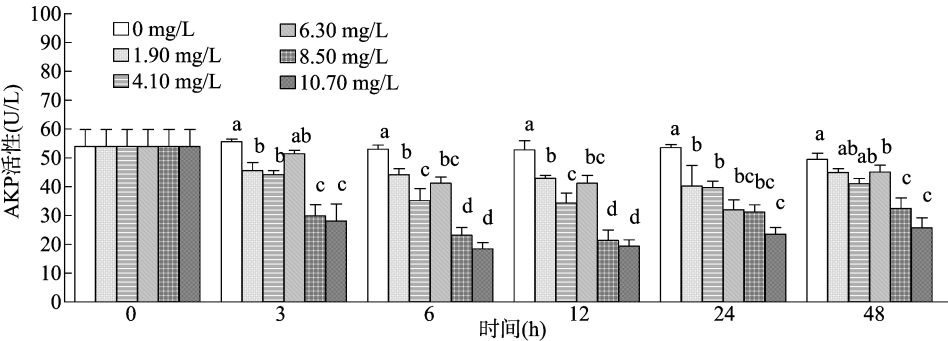


图5 不同浓度草甘膦下中华绒螯蟹血清 AKP 活性的变化

的养殖池塘等。草甘膦通过直接施加入水以及地表径流影响附近河流、湖泊,关于其对水生生物的毒性及安全评估有较多报道。傅建炜等研究结果发现,草甘膦对草鱼、鲢鱼和鲫鱼 96 h LC₅₀ 分别为 0.251 8、0.258 8、0.259 9 mg/L,均属于高毒农药^[6];刘晓伟等研究了草甘膦对多刺裸腹蚤的急性毒性作用,认为草甘膦对多刺裸腹蚤为低毒^[11];朱国念等的研究指出,草甘膦对麦穗鱼、蚤状蚤和斜生栅藻均属于低毒^[5],而关于草甘膦对虾蟹类的毒性研究则鲜有报道。史建华等研究了草甘膦对中华绒螯蟹幼蟹急性和慢性毒性,结论为草甘膦对中华绒螯蟹幼蟹毒性属于低毒,安全浓度为 1.9 mg/L^[8]。但其并没有研究草甘膦对于中华绒螯蟹成蟹的影响。在草甘膦对水体环境安全性研究中,有学者指出,在施用草甘膦后,养殖池塘水体草甘膦残留量当日为 6.286 mg/L,施药后 1 d 下降 90% 左右,至施药后 6 d 降至 0.003 mg/L,消失十分迅速;而在鱼塘沉积物中检测的残留浓度则较高,1 d 后仍高达 2.835 mg/L^[5],这对于依赖底质营养的虾蟹类动物十分不利。目前,已有研究表明,草甘膦对于虾蟹类,包括日本蟳^[7]、克氏原螯虾^[12]、中华绒螯蟹幼蟹^[8]等均属于低毒。因此,草甘膦对于主要经济虾蟹类的毒性作用,包括是否能显著影响其免疫功能,造成应激胁迫而诱发疾病的爆发,成为后续研究的重点。笔者参考草甘膦对于中华绒螯蟹幼蟹的安全浓度以及在水体中当日残留浓度,设置 5 个试验浓度,检测不同浓度草甘膦对于中华绒螯蟹成蟹主要免疫指标的影响,为后续毒理机制和安全施药提供理论依据。

血淋巴细胞在甲壳动物机体免疫系统中处于非常关键的地位,血细胞总数可以间接反映出动物机体的健康状态及免疫应激能力,因此经常作为衡量甲壳类动物免疫水平的指标之一^[13]。试验结果表明,不同浓度草甘膦作用下各组中华绒螯蟹 THC 均有所升高,随着浓度的增加,升高的趋势也越明显。其中 8.50 mg/L 组上升最明显,6 h 时达到峰值。浓度为 10.70 mg/L 组在 24 h 时出现下降。在 Cu²⁺ 对斑节对虾毒性研究中,低浓度 Cu²⁺ (0.05、0.5 mg/L) 下斑节对虾 THC 出现了上升,而高浓度 (1.5、3.5 mg/L) 组则造成 THC 显著下降,与本研究结果相似^[14]。Gallo 等研究表明,对螳螂虾注射微生物后,其 THC 在 1 h 内显著上升,并在 3 h 有明显回落^[15]。而本研究在对健康中华绒螯蟹成蟹注射一定量嗜水气单胞菌后,注射组较空白组和生理盐水组 THC 有明显上升,在 6 h 时达到最高,然后逐渐恢复。本研究认为,低浓度草甘膦可以刺激中华绒螯蟹机体的免疫系统,使其 THC 水平升高以应对应激胁迫。相反高浓度草甘膦则会对免疫功能产生抑制作用,致使 THC 水平下降。

血蓝蛋白分散在机体的血淋巴中,是甲壳类动物的呼吸色素,不仅具有输氧和免疫防御功能,还与其他理化调节有关,是一种多功能蛋白^[9]。本研究表明,不同浓度草甘膦下中华绒螯蟹血蓝蛋白含量均出现不同程度减少,且减少程度与草甘膦浓度大致呈正相关。本结果与 Yoganandhan 等研究中印度对虾感染 WSSV 后血蓝蛋白含量明显减少结果^[16]一致。此外,乐亚玲研究表明,高浓度铜绿微囊藻可以引起克氏原螯虾血清血蓝蛋白含量在 1 h 明显上升,随后剧烈下降至显著低于正常水平,并在 5 h 达到最低值^[17]。表明低毒浓度下的草甘膦也能造成中华绒螯蟹血清中血蓝蛋白的分解,从

而降低了其输氧和免疫防御的功能。

中华绒螯蟹体液中不具有免疫球蛋白,酚氧化酶 (PO) 作为其体液免疫主体之一,是抵御外界不利环境的第一道防线,与机体的免疫有直接的关系^[18]。结果表明,各浓度草甘膦作用下中华绒螯蟹机体内 PO 活性都有明显增强,其中最高浓度组增幅最为明显,并于 3 h 达到最高值,随后下降。这与陆宏达等报道中不同刺激造成机体 PO 活性增强的结果^[19]相似。此外,Dong 等在 dsRNA 攻毒中华绒螯蟹的研究中证实,GFP-dsRNA 作用下中华绒螯蟹血淋巴 PO 活性于 6 h 时显著升高并达到峰值^[20];Xian 等研究表明,0.5 mg/L Cu²⁺ 作用下斑节对虾血淋巴 PO 活性会有所上升,同样在 6 h 时升至最高^[14]。因此,笔者推测高浓度草甘膦可以激活中华绒螯蟹酚氧化酶系统,引起血淋巴中 PO 活性显著上升,而作用时间在 1~6 h 之间,这可能也是多数甲壳动物酚氧化酶系统激活的时间范围。

ACP、AKP 是甲壳动物体内一组重要的水解酶,在甲壳动物免疫应答中起到重要作用。本研究中中华绒螯蟹 ACP 活性低浓度组出现略微上升,而高浓度组出现下降;AKP 则各浓度组均出现下降,且随着浓度升高愈加明显。与 Zhao 等在组织胺对中华绒螯蟹免疫影响研究中的结论^[21]相同。不同浓度组织胺注射后,在 6 h 均引起中华绒螯蟹血清中 ACP、AKP 活性显著下降。然而,这一结论同王洪斌等在草甘膦对日本蟳毒性胁迫的研究中所得到的 ACP、AKP 有明显上升的结论^[7]相悖。这可能是物种差异造成的,具体原因有待进一步分析。

本试验结果表明,中华绒螯蟹成蟹对于草甘膦的耐受能力远强于幼蟹,在接近幼蟹 48 h 半致死浓度的 10.70 mg/L 浓度下,仅出现 13% 死亡率。但通过检测中华绒螯蟹各项免疫指标,笔者发现即使在幼蟹 1.90 mg/L 安全浓度下,仍对其免疫产生不良影响,特别是 AKP 活性仍在各时段显著降低。且随着药物浓度升高,对各项免疫指标影响更大。因此,虽然草甘膦在较低浓度下不会直接造成中华绒螯蟹的死亡,但是会对其免疫功能造成影响,尤其是在高温天气、水质恶化等情况下增大病害发生的风险,加大了发病概率。此外,在高浓度 (达到 8.50 mg/L 以上) 草甘膦作用下,中华绒螯蟹各项免疫指标在 48 h 仍未恢复至正常水平,表明即使在非致死浓度下,草甘膦可 48 h 甚至更长时间对中华绒螯蟹的免疫系统造成影响。鉴于此笔者建议在养蟹水体应避免使用草甘膦。

参考文献:

- [1] 周刚,周军. 我国河蟹产业现状及可持续发展对策[J]. 中国水产,2011(2):11-12.
- [2] 汪清,王武,马旭洲,等. 稻蟹共作对土壤理化性质的影响[J]. 湖北农业科学,2011,50(19):3948-3952.
- [3] 杨益众,邵益栋,余月书,等. 养蟹稻田减量使用农药对稻、蟹生产的影响[J]. 江苏农业学报,2006,22(1):19-23.
- [4] 卢信,赵炳祥,张佳宝,等. 除草剂草甘膦的性质及环境行为综述[J]. 土壤通报,2005,36(5):785-790.
- [5] 朱国念,楼正云,孙锦荷. 草甘膦对水生生物的毒性效应及环境安全性研究[J]. 浙江大学学报(农业与生命科学版),2000,26(3):84-87.
- [6] 傅建炜,史梦竹,李建宇,等. 草甘膦对草鱼、鲢鱼和鲫鱼的毒性[J]. 生物安全学报,2013,22(2):119-122.

李 爽, 李 耕, 潘玉洲, 等. 褐牙鲂幼鱼耳石上的外源 Sr 标记试验[J]. 江苏农业科学, 2018, 46(12): 140–143.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.12.034

褐牙鲂幼鱼耳石上的外源 Sr 标记试验

李 爽¹, 李 耕¹, 潘玉洲¹, 张 力¹, 申旭东¹, 李忠红¹, 郑文军¹, 杨文波², 袁立来², 姜 涛³, 杨 健³

(1. 中国水产科学研究院营口增殖实验站, 辽宁营口 115004; 2. 中国水产科学研究院, 北京 100039;

3. 中国水产科学研究院淡水渔业研究中心/院长江中下游渔业生态环境评价与资源养护重点实验室, 江苏无锡 214081)

摘要:为探讨利用外源锶(Sr)在牙鲂耳石上进行人工标记的可行性以及最适浓度, 配制了不同浓度 $\text{SrCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 溶液(对照组浓度为 0, 试验组浓度为 8、12、16、20 mg/L), 再将褐牙鲂幼鱼养于各浓度溶液中, 进行 20 d 的浸染试验, 之后移入正常水体中恢复养殖 20 d, 最后利用 X 射线电子探针微区分析技术对其耳石 Sr 标记结果进行确认。结果表明, 浸染组鱼耳石上能形成十分明显的红色环带, 对照组则无变化。整体上 Sr 在牙鲂耳石上的沉积量与水体中锶的浓度呈正相关, 对 8~16 mg/L 组观察, 耳石 Sr/Ca 的峰值会随浸染浓度增加而增大; 但在 16~20 mg/L 组, Sr/Ca 的峰值变化不明显。所有试验组幼鱼经恢复养殖后耳石 Sr 水平均能降到与对照组的一致。以上结果表明, 利用外源 Sr 标记对褐牙鲂这种海生鱼类而言可行, 且符合放流标记技术要求, 对褐牙鲂而言最佳暴露浓度应以 16 mg/L 为宜。

关键词:耳石; 褐牙鲂; 电子探针; 锶标记; 最适浓度; 侵染试验; 沉积; 放流标记技术

中图分类号: S917 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2018)12-0140-04

耳石是硬骨鱼类内耳中的一种硬组织, 作为一种生物矿

收稿日期: 2017-09-12

基金项目: 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项(编号: 2014A07XK08); 温带区海参优质种质资源的引进与应用(编号: 2130106); 中国水产科学研究院基本科研业务费专项(编号: 2010C004)。

作者简介: 李 爽(1980—), 男, 黑龙江哈尔滨人, 硕士, 工程师, 主要从事遗传育种、海珍品等养殖品种的增殖放流、技术推广等工作。
E-mail: lishuangzb6@163.com。

通信作者: 李 耕, 硕士, 高级工程师, 主要从事增殖放流、推广等工作。
E-mail: lishuangzb6@163.com。

物伴随着鱼类生长的同时, 其能以微化学“指纹”或者微结构特征等形式记录鱼类生活史过程中的全部生境履历信息^[1-3]。鱼体生长环境的水化学特征的变化导致耳石组成元素发生变化, 从而形成耳石上的元素环带 X 射线电子探针微区分析技术(EPMA)能够快速分析固相介质表面的元素种类及含量, 具有测试精度高、检测点密度大、能保持耳石样品信息完整等优点, 为相应元素的检测分析提供技术保障^[4]。由于在不同盐度水体中鱼类耳石上源自生境的锶(Sr)元素沉积水平差异明显, 因此利用耳石上 Sr 含量和 Sr/Ca 的值等指标具有有效推演鱼类生活史、重建水体环境变化、识别不同种群的潜力^[5-8]。除此之外, 利用耳石生长的一些特性(如从受

[7] 王洪斌, 宋秀梅, 郑金龙, 等. 日本鳎对水环境中草甘膦致毒胁迫的生理应答[J]. 农药, 2013, 52(7): 515–518.

[8] 史建华, 刘智俊, 陆锦天, 等. 草甘膦对中华绒螯蟹幼蟹的毒性影响[J]. 水产科技情报, 2015, 42(5): 239–242.

[9] 章跃陵, 王三英, 刘光明, 等. 南美白对虾血蓝蛋白对酚氧化酶活性的影响[J]. 中国水产科学, 2005, 12(4): 402–406.

[10] Ashida M. Purification and characterization of pre-phenoloxidase from hemolymph of the silkworm *Bombyx mori* [J]. Archives of Biochemistry and Biophysics, 1971, 144(2): 749–762.

[11] 刘晓伟, 席貽龙. 百草枯和草甘膦对多刺裸腹蚤的毒性效应[J]. 生态学杂志, 2012, 31(8): 1984–1989.

[12] 徐 怡, 刘其根, 胡志军, 等. 10 种农药对克氏原螯虾幼虾的急性毒性[J]. 生态毒理学报, 2010, 5(1): 50–56.

[13] 姚翠鸾, 王志勇, 相建海. 甲壳动物血细胞及其在免疫防御中的功能[J]. 动物学研究, 2006, 27(5): 549–557.

[14] Xian J A, Wang A L, Ye C X, et al. Phagocytic activity, respiratory burst, cytoplasmic free Ca^{2+} concentration and apoptotic cell ratio of haemocytes from the black tiger shrimp, *Penaeus monodon* under acute copper stress[J]. Comparative Biochemistry and Physiology, 2010, 152(2): 182–188.

[15] Gallo C, Schiavon F, Ballarin L. Insight on cellular and humoral components of innate immunity in *Squilla mantis* (Crustacea, Stomatopoda) [J]. Fish & Shellfish Immunology, 2011, 31(3): 423–431.

[16] Yoganandhan K, Thirupathi S, Hameed A S. Biochemical, physiological and hematological changes in white spot syndrome virus-infected shrimp, *Penaeus indicus* [J]. Aquaculture, 2003, 221(1/2/3/4): 1–11.

[17] 乐亚玲. 铜绿微囊藻及微囊藻毒素对克氏原螯虾的毒性作用[D]. 上海: 上海海洋大学, 2011: 20–30.

[18] 徐海圣, 徐步进. 甲壳动物细胞及体液免疫机理的研究进展[J]. 大连水产学院学报, 2001, 16(1): 49–56.

[19] 陆宏达, 刘 凯, 张明辉. 中华绒螯蟹血淋巴中酚氧化酶的部分生化特性[J]. 上海水产大学学报, 2007, 16(3): 236–241.

[20] Dong C, Zhao J, Song L, et al. The immune responses in Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis* challenged with double-stranded RNA [J]. Fish & Shellfish Immunology, 2009, 26(3): 438–442.

[21] Zhao L L, Yang X Z, Cheng Y X, et al. Effects of histamine on survival and immune parameters of the Chinese mitten crab, *Eriocheir sinensis* [J]. Journal of Shellfish Research, 2014, 31(3): 827–834.