

低温驯化下锯缘青蟹肝胰腺的抗氧化效应及 ATPase 活性变化

孔祥会^{1,2}, 王桂忠¹, 李少菁¹, 艾春香¹

(1. 厦门大学海洋学系, 近海海洋环境科学国家重点实验室, 福建 厦门 361005; 2. 河南师范大学 生命科学学院, 河南 新乡 453007)

摘要:采用生物化学方法对低温驯化的锯缘青蟹(*Scylla serrata*)肝胰腺中抗氧化酶(SOD, CAT 和 GPX)活性和脂类过氧化产物 MDA 含量以及 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$, $\text{Mg}^{2+} - \text{ATPase}$, $\text{Ca}^{2+} - \text{ATPase}$ 和 $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATPase}$ 活性进行测定。结果显示, 锯缘青蟹肝胰腺中抗氧化酶(SOD, CAT 和 GPX)活性随驯化温度的降低而降低; 而 MDA 含量则是随驯化温度的降低而升高, 其变化正好与抗氧化酶活性相反。 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$, $\text{Mg}^{2+} - \text{ATPase}$ 和 $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATPase}$ 活性均是随驯化温度的降低而升高; 而 $\text{Ca}^{2+} - \text{ATPase}$ 活性没有表现出这一明显变化趋势, 但低温驯化下仍然是酶活性升高。锯缘青蟹低温驯化下抗氧化酶活性降低表明其清除活性氧能力下降, 从而导致 MDA 在肝胰腺中积累。ATPase 活性低温驯化下升高, 说明其表现出明显的温度补偿效应(低温使酶活性下降, 同时又诱导酶合成增加, 从而使酶浓度增加, 其总的酶活性仍能维持机体正常的生理功能), 但各种 ATPase 活性的温度补偿存在差异。

关键词: 抗氧化效应; ATPase; 肝胰腺; 低温驯化; 锯缘青蟹

中图分类号: Q55 **文献标识码:** A **文章编号:** 1005-8737-(2005)06-0708-06

超氧化物歧化酶(SOD, EC 1.15.1.1)、过氧化氢酶(CAT, EC 1.11.1.6)和谷胱甘肽过氧化物酶(GPX, EC 1.11.1.9)等是清除动物体内活性氧自由基的关键酶类。正常生理条件下, 自由基的产生和清除处于动态平衡^[1]。虾蟹类抗氧化防护研究已有报道, 如蟹类^[2-4]、虾类^[5]等。结果表明, 水体环境变化与机体抗氧化效应具有密切相关性。因此, 研究水生动物抗氧化效应对探索其环境适应机制和提高机体抗氧化防护能力具有重要的意义。

三磷酸腺苷酶(ATPase, EC 3.6.1.3)是水生动物渗透压调节和离子水平维护的一类重要酶。生活在海中的甲壳动物的环境温度和盐度在不断变化, 这要求其采取相应的形态、行为和生理生化对策与之相适应^[6]。而肝胰腺是甲壳动物脂类代谢和生理调节的中心, 组织细胞中离子水平稳定性的维护对其执行正常生理功能具有重要作用。但甲壳动物肝胰腺中 ATPase 活性与环境温度相关性研究报道较少, 而在环境温度变化时, ATPase 活性对于维护细胞内离子水平的稳定性具有重要作用。

锯缘青蟹(*Scylla serrata*)是生活在近海或河口

海区的一种经济甲壳动物。其生活环境经常发生变化, 这必然要求其体内的生理生化调节发生相应改变, 因此研究锯缘青蟹生理生化变化与环境适应之间的相关性具有重要的理论价值。本研究的主要目的是通过研究低温驯化下锯缘青蟹抗氧化效应和 ATPase 活性变化, 寻求其变化规律, 探索其低温适应模式, 以期阐明低温驯化下锯缘青蟹生理生化调控机制; 另一方面为锯缘青蟹低温育种提供可参考的生理生化指标, 为锯缘青蟹养殖和管理提供理论指导。

1 材料与方法

1.1 锯缘青蟹幼蟹低温驯化

1.1.1 幼蟹采集 采用来自福建诏安国家“863”青蟹育苗基地同一批亲蟹繁殖的、在同一池培育的雄性幼蟹用于实验。

1.1.2 幼蟹分组 选择体色鲜艳、无病、无伤、规格整齐的 60 只幼蟹, 随机分为 4 组。各组幼蟹低温驯养前个体基本情况见表 1。

1.1.3 幼蟹驯化养殖管理 幼蟹单只饲养, 养殖容

收稿日期: 2004-10-10; 修订日期: 2005-02-25.

基金项目: 国家“863”重大专项(2002AA603013).

作者简介: 孔祥会(1968-), 男, 博士, 副教授, 主要从事水生动物生化适应与分子进化研究. E-mail: xhcong@xmu.edu.cn

通讯作者: 王桂忠. E-mail: gwang@jsgx.cn.xmu.edu.cn

表1 低温驯化锯缘青蟹幼蟹分组基本情况

Tab.1 Grouping status of *S. serrata* juvenilesfor low temperature acclimation $\bar{X} \pm SD$

项目 Item	分组 Group			
	A(5℃)	B(10℃)	C(15℃)	D(27℃)
头胸甲宽/cm	3.06±	2.88±	2.95±	2.86±
Carapace width	0.27	0.24	0.24	0.18
头胸甲长/cm	2.16±	2.09±	2.13±	2.08±
Carapace length	0.21	0.18	0.18	0.17
体重/g	5.04±	4.60±	4.69±	4.53±
Body weight	1.18	1.13	1.07	0.49

器为体积2 L的半透明圆柱状塑料皿;控温装置为大容积光照生物培养箱;光周期为12 L:12 D。养殖用水为沙滤海水,经充氧曝气24 h和充分沉淀后使用。盐度为25。每3天换水1次。投饵以幼蟹专用配合饲料和菲律宾杂色蛤仔配合使用。在适应、降温和驯化期间管理条件一致。

1.1.4 驯化前适应和降温 幼蟹适应1周后进行降温。降温速度1℃/12 h,降至设定温度后恒温,开始计算驯化时间。

1.1.5 低温驯化 光照生物培养箱中严格控温驯化。实验组驯化期间水温分别为A组(5±1.5)℃, B组(10±1.5)℃和C组(15±1.5)℃,正常饲养组为自然水温(27±2.5)℃。驯化期间定期换水,换水前海水要预冷至设置温度后迅速换水。每天早、中、晚定期观察,并做好记录。

1.1.6 样品收集 驯化3周后取样,对锯缘青蟹逐只依次处理。从培养箱中取出锯缘青蟹,用软布擦干后迅速进行解剖和取材。

1.2 样品制备

低温驯化幼蟹每组取10只,取样时剪开头胸甲,迅速取出肝胰腺,装于离心管中,置-80℃冰箱中待用。制样时称取0.2 g,按质量体积比1:9(即1 g样品加9 mL匀浆液)加入0.9%生理盐水进行冰浴匀浆,然后在4℃,6 000 r/min(RCF为3 824 g)的条件下离心15 min,取上清液分装,置于-20℃冰箱中备测,每一批样品均在1周内完成测定。

1.3 测定方法

1.3.1 超氧化物歧化酶(SOD)活性测定 采用南京建成生物工程研究所的试剂盒进行测定,具体测定方法按试剂盒的说明进行。SOD活性单位定义:每毫克组织蛋白在1 mL反应液中SOD抑制率达

50%时所对应的SOD量为一个亚硝酸盐单位(活性单位为U·mg⁻¹)。

1.3.2 过氧化氢酶(CAT)活性测定 采用钼酸铵比色法,根据程鲁京(1994)建立的方法进行测定^[7]。CAT活性单位定义:反应体系中,每分钟每毫克蛋白分解1 μmol过氧化氢为1个酶活性单位(活性单位:U·mg⁻¹)。

1.3.3 谷胱甘肽过氧化物酶(GPX)活性测定 采用南京建成生物工程研究所的试剂盒进行测定,具体测定方法按试剂盒说明进行。GPX活性单位定义:每毫克蛋白质,每分钟扣除非酶反应的作用,使反应体系中GSH浓度降低1 μmol·L⁻¹为一个酶活性单位(活性单位为U·mg⁻¹)。

1.3.4 丙二醛(MDA)含量测定 采用南京建成生物工程研究所的试剂盒进行测定,具体测定方法按试剂盒说明进行。

1.3.5 ATPase活性测定 4种类型ATPase活性测定采用试剂盒(购于南京建成生物工程研究所)提供的方法测定。ATPase活性定义:每小时每毫克蛋白的ATPase分解ATP产生1 μmol无机磷量为一个ATPase活性单位[μmol(Pi)·h⁻¹·mg⁻¹]。

1.3.6 匀浆粗提液蛋白定量 参照Bradford(1976)测定方法^[8]。牛血清白蛋白(BSA,购于AMRESCO公司)作为标准蛋白。

1.4 数据处理

采用EXCEL2000统计分析软件进行One-way ANOVA分析和独立性t检验。

2 结果与分析

2.1 低温驯化锯缘青蟹肝胰腺抗氧化效应变化

低温驯化下幼蟹肝胰腺中SOD、CAT、GPX活性和MDA含量变化见图1。其中SOD活性是随驯化温度的降低而减弱,统计分析显示,5℃和10℃驯化组显著低于27℃组($P<0.01$);CAT活性也是随驯化温度的降低而减弱,5℃驯化组显著低于27℃组($P<0.05$),10℃和15℃驯化组与27℃组之间差异不显著($P>0.05$);GPX活性同样是随驯化温度的降低而降低,5℃和10℃驯化组显著低于27℃组($P<0.05$);而MDA含量则是随驯化温度的降低而升高,5℃和10℃驯化组显著高于27℃组($P<0.01$ 或 $P<0.05$)。

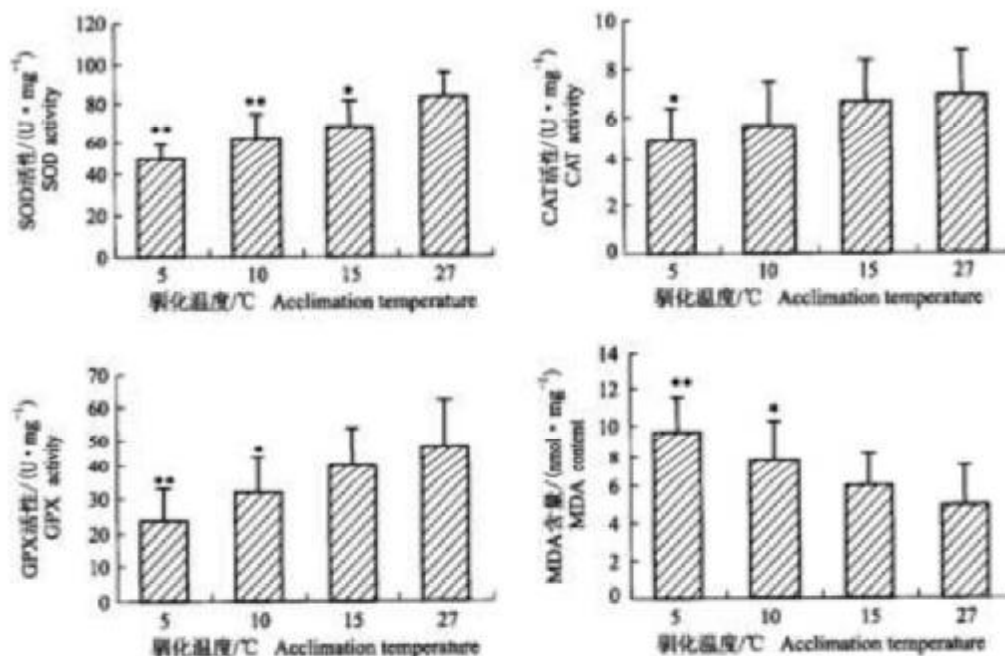


图1 低温驯化锯缘青蟹肝胰腺中SOD、CAT、GPX活性和MDA含量的变化

注:图中所有数值均是以 $\bar{X} \pm SD$ ($n=10$)表示。统计分析时,*表示与27℃组之间有显著性差异($P<0.05$);**表示与27℃组之间有极显著性差异($P<0.01$)。

Fig.1 Changes of SOD, CAT and GPX activities and MDA content in hepatopancreas of *Scylla serrata* under low temperature acclimation

Note: All values in figures are presented by $\bar{X} \pm SD$ ($n=10$). "*" Represents that there is significant difference between 27℃ group and acclimation group ($P<0.05$); "**" Represents that there is highly significant difference ($P<0.01$).

2.2 低温驯化锯缘青蟹肝胰腺ATPase活性的变化

低温驯化锯缘青蟹肝胰腺中4种类型ATPase活性变化见图2。 $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATPase}$ 活性随驯化温度的降低而升高,统计分析显示,5℃和10℃驯化组显著高于27℃组($P<0.01$); $\text{Mg}^{2+}-\text{ATPase}$ 活性也是随驯化温度的降低而升高,5℃和10℃驯化组显著高于27℃组($P<0.01$ 或 $P<0.05$); $\text{Ca}^{2+}-\text{ATPase}$ 活性低温驯化下也升高,但低温驯化组与27℃组之间无显著差异($P>0.05$); $\text{Ca}^{2+}-\text{Mg}^{2+}-\text{ATPase}$ 活性也是随驯化温度的降低而升高,5℃和10℃驯化组显著高于27℃组($P<0.01$ 或 $P<0.05$)。

3 讨论

3.1 锯缘青蟹低温驯化下肝胰腺抗氧化效应的变化

水生甲壳动物生活的环境温度发生改变时,其机体生理代谢水平发生相应的变化,代谢酶的催化效率及调节方式也发生相应改变^[9]。

锯缘青蟹幼体最适宜生长水温为25~30℃^[10]。本实验参照这一温度,在该温度以下设定3个不同低温(5℃、10℃和15℃)进行驯化,3周后发现幼蟹肝胰腺抗氧化效应发生明显变化。锯缘青蟹肝胰腺是机体重要的代谢调节器官,同时也是脂类代谢的中心。幼蟹肝胰腺中SOD、CAT和GPX活性均是随驯化温度的降低而降低。温度降低时,锯缘青蟹生理代谢水平下降,代谢酶活性也下降,从而抗氧化酶SOD、CAT和GPX活性也相应下降。温度高时,酶活性高;温度低时,酶活性低,这与其他学者对双壳类抗氧化酶活性与季节温度呈正相关的报道一致^[11-13]。另外低温驯化下由于抗氧化酶活性下降,锯缘青蟹生理代谢过程中产生的活性氧自由基不能得到及时清除,导致组织发生氧化应激,从而使MDA含量增加,所以肝胰腺中MDA含量是随驯化温度的降低而升高。肝胰腺中MDA含量与抗氧化酶活性成负相关,这一点与Niyogi等^[14]报道的结果一致。

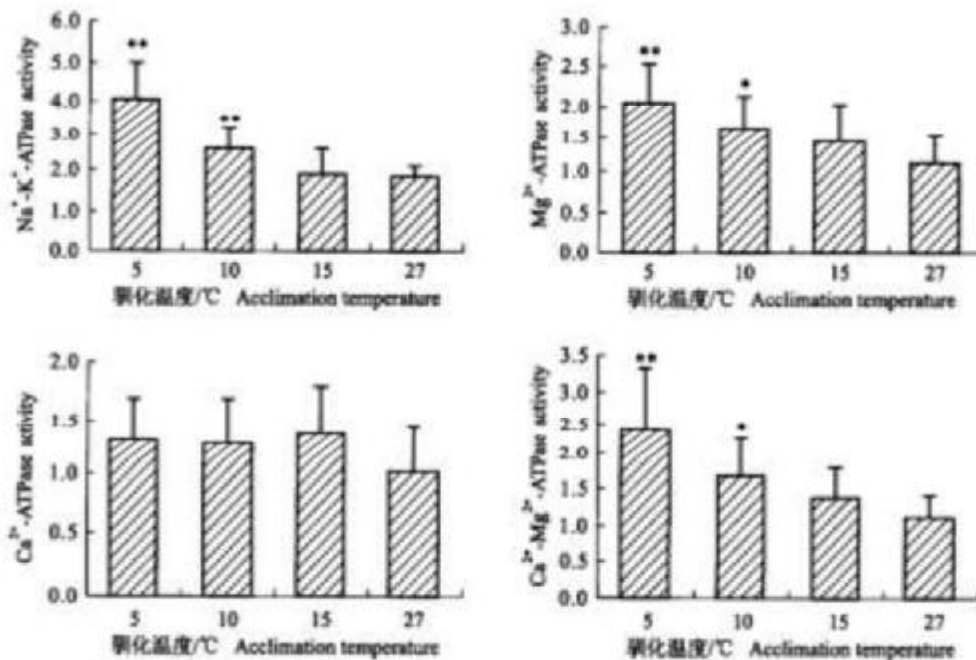


图2 低温驯化锯缘青蟹肝胰腺中4种类型ATPase活性的变化

注:图中所有数值均是以 $\bar{X} \pm \text{SD}$ 表示($n=10$),酶活性单位为 $\mu\text{mol(Pi)} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$ 。统计分析时,*表示与27℃组之间有显著性差异($P < 0.05$);**表示与27℃组之间有极显著性差异($P < 0.01$)。

Fig.2 Activity changes of four ATPases in hepatopancreas of *S. serrata* under low temperature acclimation

Note: All values in figures are presented by $\bar{X} \pm \text{SD}$ ($n=10$). Enzyme activity unit is signed by $\mu\text{mol(Pi)} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$. * * Represents there is significant difference between 27℃ group and acclimation group ($P < 0.05$); * * * Represents that there is highly significant difference ($P < 0.01$).

3.2 低温驯化锯缘青蟹肝胰腺中4种类型ATPase活性的变化

ATPase是细胞膜固有的一种蛋白质复合体,其主要生理功能是通过水解ATP释放能量,进行逆浓度梯度的离子转运。从而保持细胞内外离子浓度的相对稳定,以维持生物体正常的生理代谢和能量代谢。 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 主要进行逆浓度差和电位差转运物质,从而形成跨膜的 Na^+ 和 K^+ 电化学梯度。 Ca^{2+} 和 Mg^{2+} 在维持细胞正常生理功能中具有重要的作用, Ca^{2+} 可控制膜的稳定性和调节神经递质的释放。 $\text{Ca}^{2+} - \text{ATPase}$ 通过主动转运可将细胞内游离 Ca^{2+} 泵出细胞外,使细胞内 Ca^{2+} 维持在较低的水平。 $\text{Mg}^{2+} - \text{ATPase}$ 主要是调节细胞内外离子流及维持膜上功能蛋白执行生理功能所需的 Mg^{2+} 浓度,保持膜的完整性。 $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATPase}$ 是 Mg^{2+} 依赖的 $\text{Ca}^{2+} - \text{ATPase}$,线粒体中 $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATPase}$ 活性可能与摄取细胞内游离钙有关,使其对

线粒体基质中 Ca^{2+} 水平有一定的调节作用^[15]。如果 $\text{Ca}^{2+} - \text{ATPase}$ 和 $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATPase}$ 活性降低,胞浆内 Ca^{2+} 积累,不但引起能量代谢和物质代谢紊乱,而且还可以导致细胞的形态、结构和功能的异常。

肝胰腺中 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 、 $\text{Mg}^{2+} - \text{ATPase}$ 和 $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATPase}$ 活性随驯化温度的降低而升高,而 $\text{Ca}^{2+} - \text{ATPase}$ 活性变化并没有呈现出这一明显变化趋势,但其活性仍然是低温驯化后升高,说明肝胰腺中ATPase活性在温度降低时表现出明显的温度补偿效应(低温使酶活性下降,同时又诱导酶合成增加,从而使酶浓度增加,其总的酶活性仍能维持机体正常的生理功能)。这是因为肝胰腺是机体重要的代谢和调节器官,组织细胞离子水平稳定性对其完成正常生理功能非常重要。低温环境下,肝胰腺细胞维持离子调节能力和离子水平的稳定,就需要增加ATPase活性,所以低温下肝胰腺中酶活性

的提高也是生物体自身生存的需要。锯缘青蟹幼蟹在整个驯化期间驯化组基本上不摄食。15℃组运动微弱;10℃组用手触及时运动;5℃组用手触及时也不运动,处于麻痹状态,说明锯缘青蟹随着驯化温度的降低其生理代谢下降,不运动正是降低能量消耗和保持最低限度生存的需要。虽然低温驯化下生理代谢较弱,机体不运动,而ATPase活性(37℃下测定)升高,这是由于变温动物不同于恒温动物,其生理温度是随外界温度而变化,同样其生理酶活也是随环境温度而改变,因此本实验中测定的酶活性与低温下的生理酶活性存在差异,即37℃下测定活性较高的酶在低温下所执行的生理功能可能相当弱,所以只有在生理温度下测定代谢酶活性才能更接近地反映其生理代谢强度。虽然低温环境下甲壳动物鳃ATPase活性变化已有较多报道^[16-19],采用的测定温度从25℃到37℃不等,但其结果均表明低温驯化下组织中酶活性增加。由于不同组织存在组织特异性,肝胰腺和鳃低温驯化下虽有相同的变化趋势,但其变化机制可能不同。低温驯化下肝胰腺ATPase活性升高。这种适应机制目前还不太清楚,但认为主要是由3个方面的原因形成,一是酶浓度在低温下升高^[19],二是同工酶的表达^[20-22],三是膜脂肪酸组成的变化^[16,19,23]。这还有待于今后进行综合研究。

参考文献:

- [1] 方光中,郑荣盛. 自由基生物学的理论与应用[M]. 北京:科学出版社,2002:122-161.
- [2] Orbe A, Ortiz-Zarragoitia M, Solé M, et al. Antioxidant enzymes and peroxisome proliferation in relation to contaminant body burdens of PAHs and PCBs in bivalve molluscs, crabs and fish from the Urdaibai and Pentaia estuaries (Bay of Biscay) [J]. *Aqua Toxicol*, 2002, 58: 75-98.
- [3] Brouwer M, Brouwer T H. Biochemical defense mechanisms against copper-induced oxidative damage in the blue crab, *Gallinectes sapidus* [J]. *Arch Biochem Biophys*, 1998, 351(2): 257-264.
- [4] Gamble S C, Goldfarb P S, Porte C, et al. Glutathione peroxidase and other antioxidant enzyme function in marine invertebrates (*Mytilus edulis*, *Pecten maximus*, *Carcinus maenas* and *Asterias rubens*) [J]. *Mar Environ Res*, 1995, 39: 191-195.
- [5] Dandapat J, Chakraborty G B N, Rao K J. Dietary vitamin-E modulates antioxidant defence system in giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii* [J]. *Comp Biochem Physiol*, 2000, 127C: 101-115.
- [6] Promer L. Environmental and metabolic animal physiology[M]. London: Wiley-Liss, 1991: 13-107.
- [7] 程鲁京,孟 译. 钼酸胺显色法测定血清过氧化氢酶[J]. 临床检验杂志, 1994, 12(1): 6-8.
- [8] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein-dye binding [J]. *Anal Biochem*, 1976, 72: 248-254.
- [9] Hochachka P W, Somero G N. *Biochemical Adaptation* [M]. Princeton, New Jersey: Princeton University Press, 1984: 356-449.
- [10] 曹朝曙,李少青. 温度对锯缘青蟹幼体发育和存活的影响[J]. 水产学报, 1992, 16(3): 213-221.
- [11] Cancio I, Babe A, Cajaville M P. Seasonal variation of peroxisomal enzyme activities and peroxisomal structure in muscle *Mytilus galloprovincialis* and its relationship with the lipid content [J]. *Comp Biochem Physiol*, 1999, 123(C): 138-144.
- [12] Solé M, Porte C, Albaiges J. Seasonal variation in the mixed function oxygenase system and antioxidant enzymes of the mussel *Mytilus galloprovincialis* [J]. *Environ Toxicol Chem*, 1995, 14: 157-164.
- [13] Viarengo A, Canesi L, Pertica M, et al. Seasonal variations in the antioxidant defence enzymes and lipid peroxidation of the digestive gland of mussels [J]. *Comp Biochem Physiol*, 1991, 100 (C1-C2): 187-190.
- [14] Niyogi S, Biswas S, Sarkar S, et al. Seasonal variation of antioxidant and biotransformation enzymes in barrack, *Balanus balanoides*, and their relation with polycyclic aromatic hydrocarbons [J]. *Mar Environ Res*, 2001, 52: 13-26.
- [15] Zylinska L, Legutko B. Neuroactive steroid modulate in vitro the Mg^{2+} -dependent Ca^{2+} - Mg^{2+} -ATPase activity in cultured rat neurons [J]. *Gen Pharmac*, 1998, 30 (4): 533-536.
- [16] Gobbionelli R, Falcioni G, Mazzanti L, et al. Seasonal variations of physical and biochemical membrane properties in trout erythrocytes [J]. *Comp Biochem Physiol*, 1996, 134B: 275-279.
- [17] Staurnes M, Rainuzzo J R, Sighele T, et al. Acclimation of Atlantic cod (*Gadus morhua*) to cold water: stress response, osmoregulation, gill lipid composition and gill Na^+ , K^+ -ATPase activity [J]. *Comp Biochem Physiol*, 1994, 109A: 413-421.
- [18] Sun L T, Chen G R, Chang C F. Characteristics of blood parameters and Na^+ , K^+ -ATPase in chilled common carp cultured in various salinities [J]. *Comp Biochem Physiol*, 1994, 107A: 641-646.
- [19] Schwarzbaur P J, Niedenstatter H, Wieser W. Effects of temperature on the Na^+ , K^+ -ATPase and oxygen consumption in hepatocytes of two species of freshwater fish, rudd (*Rutilus rutilus*) and brook trout (*Salvelinus fontinalis*) [J]. *Physiol Zool*, 1992, 65: 699-711.
- [20] Bernis C, Cheval L, Buffin-Meyer B, et al. Cold and Ouabain-resistance of renal Na^+ , K^+ -ATPase in cold-exposed and hibernating jerboas (*Jaculus orientalis*) [J]. *Comp Biochem Physiol*, 1997, 117A: 493-500.
- [21] Lin J J, Somero G N. Temperature-dependent changes in ex-

- pression of thermostable and thermolabile isozymes of cytosolic malate dehydrogenase in the eurythermal goby fish *Gillichthys mirabilis*[J]. *Physiol Zool*, 1995, 68: 114-128.
- [22] Somero G N. Proteins and temperature[J]. *Annu Rev Physiol*, 1995, 57: 43-68.
- [23] Huei J R. Thermal adaptation in biological membranes: is homeoviscous adaptation the explanation[J]. *Annu Rev Physiol*, 1995, 57: 19-42.

Antioxidant effects and ATPase activity changes in hepatopancreas of mud crab *Scylla serrata* under low temperature acclimation

KONG Xiang-hui^{1,2}, WANG Gui-zhong¹, LI Shao-jing¹, AI Chun-xiang¹

(1. Department of Oceanography, State Key Laboratory of Marine Environmental Science, Xiamen University, Xiamen 361005, China; 2. College of Life Science, Henan Normal University, Xinxiang 453007, China)

Abstract: Mud crab, *Scylla serrata*, is a commercial species, which is eurytherm, living in estuary or sea-coast. Because of fluctuating changes of environment temperature, the corresponding adaptation strategy will be used by *S. serrata*. Studies on physiology and biochemistry regulation in changes of environment temperature are important for the species culture and management. However, few papers on antioxidant effects and ATPase activity changes in *S. serrata* were published. This research was carried out to explore biochemistry adaptation mechanism in *S. serrata* from antioxidant defense and ATPase activity, and supply reference data for fishery management. *S. serrata* in this experiment were juvenile crabs, which were from special fishery for national "863" program. The individuals were cultured in 2 L containers respectively in a lighted-culture tank. After adaptation for 1 week, the crabs were divided randomly into four groups, and acclimated for 3 weeks after temperature decreasing to low temperature predefining in 1 °C /12 h respectively, then the samples were prepared and enzyme activity was determined.

In this study, biochemistry methods were adopted to determine the activity of antioxidant enzymes (SOD, CAT and GPX) and the content of MDA, as well as the activity of Na⁺, K⁺-ATPase, Mg²⁺-ATPase, Ca²⁺-ATPase and Ca²⁺, Mg²⁺-ATPase in hepatopancreas of the juvenile of mud crab, *Scylla serrata*, under low temperature acclimation. The results showed that the activity of antioxidant enzymes (SOD, CAT and GPX) in hepatopancreas decreased gradually with decrease of acclimation temperature. However, the changes of MDA content were just contrary to that of the antioxidant enzyme activity. Activity changes of Na⁺, K⁺-ATPase, Mg²⁺-ATPase and Ca²⁺, Mg²⁺-ATPase in hepatopancreas increased gradually with decrease of acclimation temperature; Ca²⁺-ATPase activity did not show significant changes, but still increased in low temperature acclimation. The decrease of antioxidant enzyme activity indicated that physiological metabolism fell and enzyme activity decreased in organism under low temperature, thus MDA was accumulated in cells. Increase of ATPase activity in hepatopancreas under low temperature acclimation showed that there were obvious compensation effects of temperature in *S. serrata*, but various types of ATPase were different in activity changes.

Key words: antioxidant effects; ATPase; hepatopancreas; low temperature acclimation; *Scylla serrata*

Corresponding author: WANG Gui-zhong. E-mail: gowang@jingxian.xmu.edu.cn