

研究简报

铜、镉对鲫组织超氧化物歧化酶活性的影响

贾秀英 陈志伟

(杭州师范学院生命科学学院, 杭州 310036)

THE EFFECTS OF Cu^{2+} 、 Cd^{2+} ON SUPEROXIDE ACTIVITIES IN *CARASSIUS AURATUS*

JIA Xiuying and CHEN Zhiwei

(School of Life Sciences, Hangzhou Normal College, Hangzhou 310036)

关键词: 铜; 镉; 超氧化物歧化酶; 鲫

Key words: Copper; Cadmium; Superoxidase; *Carassius auratus*

中图分类号: S965.117 文献标识码: A 文章编号: 1000-3207(2003)03-0323-03

由于工业废水的排放, 重金属污染已成为主要的环境污染之一^[1]。铜、镉是主要的重金属污染物, 其毒理研究越来越为人们所重视。超氧化物歧化酶(SOD)几乎存在于所有动物的细胞中, 对机体的氧化与抗氧化平衡起着至关重要的作用, 此酶能清除超氧阴离子自由基(O_2^-), 保护细胞免受损伤, 是动物体内一种重要的抗氧化保护酶。因而研究污染物暴露下抗氧化酶活性的变化规律, 探索污染物的致毒机理, 探讨以抗氧化酶作为污染监测指标的可能性, 已引起有关科学工作者的广泛重视^[2-4], 国内这方面研究尚未见报道。本实验试图通过对 Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 暴露后鲫组织超氧化物歧化酶活性变化的研究, 探讨重金属的致毒机理以及以 SOD 作为污染暴露的生物标记的可能性。

1 材料和方法

1.1 材料 杭州市某水产养殖场购得体长10—15cm、体重150g左右的鲫(*Carassius auratus* Linnaeus), 体格健壮。经暂养2周后进行急性中毒试验。试验用水为脱氯的自来水, 实验水温为 $16.7 \pm 0.5^\circ\text{C}$, $\text{pH} 7.2 \pm 0.16$ 。

1.2 染毒和取样 试验采用静水法, 用分析纯的氯化镉($\text{CdCl}_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$)配成 Cd^{2+} 浓度为 0.5mg/L 、 1mg/L 和 2mg/L 三个浓度级; 用分析纯的硫酸铜($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)配成 Cu^{2+} 浓度为 1mg/L 、 2mg/L 、 4mg/L 三个浓度级。配制时充分搅拌。每组放置8尾鲫鱼种, 每处理组均设对照, 各设平行组(表1)。各箱用一个充气泵不间断地充气。待最高浓度组死亡

鲫达50% (约处理后10—11h)时中止试验, 逐尾解剖取出部分脑、肝、肾和鳃组织, 死亡鱼不取样。用吸水纸吸去表面水分, 天平上准确称重 0.05g , 然后用玻璃匀浆器匀浆, 以 $4000\text{r}/\text{min}$ 离心 10min , 取上清液, 用蒸馏水定容至 10mL , 置于 -20°C 冰箱, 24h 内测定酶活性。

1.3 SOD 活性测定 参照 Dhindsa 等方法^[5], 测定 SOD 对氯化硝基四氯唑蓝(Nitroblue tetrazolium, 简称 NBT)光化还原的抑制作用。酶活性单位以每小时抑制 NBT 光还原 50% 作为一个酶活单位。鲫组织的酶活性以每克组织所含酶活单位数计, 以 U/g 表示。酶活力按下式计算: $(\text{对照管吸光度} - \text{测定管吸光度}) / (\text{对照管吸光度} / 50\%) * \text{反应液总体积} / \text{取样量} / \text{组织中蛋白含量} / \text{反应时间}$ 。各组织中的蛋白含量通过 Lowry 法^[6] 测定。

2 结果

2.1 Cu^{2+} 对鲫四种组织 SOD 活性的影响

由表2可以看出, 在低浓度 Cu^{2+} (1mg/L) 毒害下, 鲫的肝胰脏、肾脏和鳃组织的 SOD 活性高于对照, 分别比对照升高了 53.06%、57.66%、11.07%; 随着 Cu^{2+} 浓度的提高, 肝胰脏、肾脏和鳃的 SOD 活性迅速下降, 在 2mg/L Cu^{2+} 浓度组, 肝胰脏、肾脏和鳃组织的 SOD 活力下降为对照的 85.30%、88.06% 和 76.38%; 在 4mg/L Cu^{2+} 浓度组, 三种组织的 SOD 活性仅为对照的 69.67%、64.51% 和 51.99%。脑组织在 3 个浓度组与对照组变化不明显。由此可以看出, 鳃、肝胰脏、

收稿日期: 2002-09-17; 修订日期: 2002-10-10

基金项目: 杭州师范学院重点学科(HNC006)资助项目

作者简介: 贾秀英(1966—), 女, 浙江省义乌市人; 副教授; 从事鱼类生态毒理学方面的研究

肾脏三种组织对 Cu^{2+} 的反应较为敏感, 而脑组织不很敏感, 其比降值(酶活性下降倍数/金属浓度升高倍数)^[7]明显低于其他三组织。

2.2 Cd^{2+} 对鲫四种组织 SOD 活性的影响

由表 3 可以看出, 在低浓度 Cd^{2+} (0.5mg/L) 毒害下, 鲫肝胰脏组织的 SOD 活性增强了 12.98%; 在 1mg/L、2mg/L Cd^{2+} 浓度组, 肝胰脏组织的 SOD 活性已迅速下降至正常值

的 85.25%、43.76%; 肾脏和鳃组织的 SOD 活性, 却随着 Cd^{2+} 浓度的提高而呈下降趋势, 分别比对照下降了 10.88%、40.17%、55.96% 和 14.1%、20.35%、58.90%。脑组织在低浓度(0.5mg/L、1mg/L) 组, 其中 SOD 活性与对照组变化不明显, 在高浓度(2mg/L) 组, 脑组织 SOD 活性也下降至对照的 67.21%。肝组织 SOD 活力也降至正常值的 43.76%。这说明鲫组织的 SOD 活性随 Cd^{2+} 浓度的提高而呈下降趋势。

表 1 Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 对鲫的急性中毒试验

Tab. 1 Acute poisoning experiments of copper and cadmium in *C. auratus*

浓度(mg/L) Concentrations	第一次试验(持续 10—11h)			第二次试验(持续 11—12h)		
	试验鱼 Experimental fish	存活鱼 Live fish	死亡鱼 Die fish	试验鱼 Experimental fish	存活鱼 Live fish	死亡鱼 Die fish
Cu^{2+}	Control	8	8	0	8	0
	1	8	8	0	8	0
	2	8	7	1	8	2
	4	8	3	5	8	4
Cd^{2+}	Control	8	8	0	8	0
	0.5	8	8	0	8	0
	1	8	6	2	8	3
	2	8	4	4	8	5

表 2 Cu^{2+} 对鲫组织 SOD 活性的影响

Tab. 2 Effect of copper on SOD activity in *C. auratus*

Cu^{2+} 浓度(mg/L) Concentration	酶活力(U/g) Enzyme activity				
	脑 Brain	肝胰脏 Liver and pancreas	肾脏 Kidney	鳃 Gill	
对照 Control	14.03±0.045(16)	22.52±0.044(16)	20.43±0.063(16)	23.58±0.032(16)	
1	13.50±0.062(16)	34.47±0.058(16)	32.21±0.039(16)	26.19±0.066(16)	
2	14.84±0.048(13)	19.21±0.052(13)*	17.99±0.042(13)*	18.01±0.047(13)*	
4	12.78±0.036(7)	15.69±0.034(7)**	13.28±0.046(7)**	12.26±0.054(7)**	

表 3 Cd^{2+} 对鲫组织 SOD 活力的影响

Tab. 3 Effect of cadmium on SOD activity in *C. auratus*

Cd^{2+} 浓度(mg/L) Concentration	酶活力(U/g) Enzyme activity				
	脑 Brain	肝胰脏 Liver and pancreas	肾脏 Kidney	鳃 Gill	
对照 Control	16.22±0.048(16)	20.34±0.042(16)	17.55±0.038(16)	22.41±0.064(16)	
0.5	18.83±0.047(16)	22.98±0.039(16)	15.64±0.044(16)	19.25±0.059(16)	
1	18.06±0.055(13)	17.34±0.062(13)*	10.50±0.052(13)*	17.85±0.058(13)*	
2	10.90±0.056(7)**	8.90±0.048(7)**	8.08±0.046(7)**	9.21±0.036(7)**	

3 讨论

生物体内的保护酶系统具有清除自由基的作用, 如果保护酶活性较强, 就能减少自由基等毒害物质的积累, 脱脂过氧化水平就稳定。反之, 如果保护酶活性较弱, 生物体内自由基等毒害物质的积累就增加, 脱脂过氧化水平就稳定。本

研究表明, 不同浓度 Cu^{2+} 和 Cd^{2+} 污染对鲫脑、肝、肾、鳃的 SOD 活性有不小的影响, 且不同浓度 Cu^{2+} 和 Cd^{2+} 对鲫不同组织的 SOD 活性影响有一定的差异。因此, SOD 可以作为鱼类逆境生理的一个生化指标。

国内外大量的研究都发现, 小剂量与大剂量的同一重金属元素对同一生理生态反应具有相反的效应, 即小剂量的重

金属离子对代谢有一定的“促进”作用,而大剂量的重金属离子则抑制正常的生理生态过程^[8,9]。本实验结果也符合这一共性,即在低浓度的Cu²⁺、Cd²⁺的毒害下,鲫组织的SOD酶活性提高,随着Cu²⁺、Cd²⁺浓度的增大,鲫组织的SOD酶活性呈明显下降趋势。

另外,从研究结果还可发现,Cu²⁺对鲫鳃、肝、肾的SOD活力影响较大,而对脑组织SOD活力的影响较小;Cd²⁺对鲫4种组织的影响都比较大。对比发现,Cd²⁺对鲫4种组织SOD活力影响的比降值比Cu²⁺对鲫4种组织的比降值大,说明Cd²⁺对鲫4种组织的SOD活力的影响比Cu²⁺大,这与它们的生理毒性是相对应的,即Cd²⁺毒性>Cu²⁺毒性。

参考文献:

- [1] Zhen J S, Zhou J Y. Heavy Metals of Aqueous Environment In China [M]. Beijing: China Environmental Science Press, 1992. [陈静生,周家义.中国水环境重金属研究.北京:中国环境科学出版社,1992]
- [2] Bugeot T, Anderson B G. Bioindicators of pollutant exposure in the northwestern Mediterranean Sea[J]. *Mar Ecol Prog Ser*, 1996, **131**: 125—141
- [3] Cossu C, Bazzaz M B, Govindjee A. Glutathione reductase, selenium

dependent glutathione peroxidase, glutathione levels, and lipid peroxidation in freshwater bivalves, *Unio tumidus*, as biomarkers of aquatic contamination in field studies [J]. *Ecol Environ Safe*, 1997, **38**: 122—131

- [4] Livingstone D R, Archibald S, Chipman K L et al. Antioxidant enzymes in liver of dab *Limanda Limanda* from the North Sea[J]. *Mar Ecol Prog Ser*, 1992, **91**: 97—104
- [5] Zhu G L, Zhong H W, Zhang A Q. Plant physiology experiment[M]. Beijing: Beijing university Press, 1990[朱广廉,钟海文,张爱琴.植物生理学实验.北京:北京大学出版社,1990]
- [6] Ku B. Means of biology Chemistry[M]. Beijing: People Press, 1977 [库柏.生物化学工具(M).北京:人民出版社,1977]
- [7] Liang T, Tao S, Lin J Z. Accumulation of Copper in the fish body with gill removed and the fish gill[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 1999, **19**(5): [梁涛,陶澍,林健枝.鱼体(去鳃)和鱼鳃对不同形态铜的积累特征.生态学报,1999,19(5):]
- [8] Mark Macnair. Tansley Review No. 49: The Genetics of Metal Tolerance in Vascular Plants. *New Phytophysio*, 1993, **124**: 541—559
- [9] Cumming J R, Tomsett A B. Metal tolerance in plants: signal transduction and accumulation mechanisms. In: Adriano D. D(ed.) *Biogeochemistry of trace metals*. Boca Raton: Lewis Publishers, 1992, 329—364