

郑桂红,王 菲,孙建梅,等. 重金属铜对红鲫组织的氧化损伤作用[J]. 江苏农业科学,2013,41(12):238-240.

# 重金属铜对红鲫组织的氧化损伤作用

郑桂红,王 菲,孙建梅,刘缠民,程 超,冯照军

(江苏师范大学生命科学学院,江苏徐州 221116)

**摘要:**监测不同浓度铜对红鲫组织的氧化损伤作用,结果表明:铜浓度越大,对红鲫的氧化损伤越严重,同时机体有一套自我修复程序,能不同程度修复损伤。当损伤的程度超过一定范围时,机体会出现明显病变。

**关键词:**铜;重金属;红鲫

**中图分类号:** S917 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2013)12-0238-03

铜是动物体内不可缺少的微量元素,参与动物多种代谢过程,但是铜过量也会对机体造成不同程度的损伤。近年来环境污染问题愈演愈烈,重工业、冶金业等排放的废水中含有大量重金属离子,给水体及水生生物造成极大威胁。工业废水含有大量铜,易破坏水生生物的身体机能。过量的铜可以使牡蛎肉色变绿,导致鱼类发生急性中毒。鱼类处于水生生态系统顶端,极易富集重金属。同时鱼类能吸收废水中的铜,加重了铜对鱼类的危害。鱼类的鳃主要用于吸收水中溶解的氧气,参与鱼体呼吸、滤食以及排泄等过程,直接接触水体中的重金属。肝脏是动物重要的解毒器官。研究表明,重金属在鱼体中主要积累在肝脏、鳃等器官,以肝脏中最为明显,肌肉中重金属含量较少<sup>[1-2]</sup>。重金属、鱼体内的生物大分子之间的相互作用加剧了重金属对机体的毒性作用<sup>[3-7]</sup>。由于重

金属的胁迫,机体内部代谢平衡被打乱,活性氧代谢产物通过自由基链式反应生成的脂质过氧化自由基也增多,自由基极易攻击体细胞,造成机体氧化、抗氧化系统失衡,导致细胞损伤、酶活性发生变化<sup>[8]</sup>。红鲫属于鲤形目鲤科鲫属,是普通的鲫鱼在人工饲养条件下,因变异产生的鲫鱼再经过长时间人工培育所形成的品种。红鲫具有对试验处理反应灵敏、容易饲养管理等优点<sup>[9-10]</sup>。本研究监测不同浓度铜对红鲫组织的氧化损伤作用,旨在为环境检测及水质保护提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

试验用红鲫购于江苏省徐州市花鸟市场,平均体长为 $(6.0 \pm 3.2)$  cm,体重 $(5.58 \pm 2.3)$  g。采用静水式养殖法<sup>[1]</sup>在实验室水箱内进行为期 1 周的预试验,暂养期间活动正常、无病、死亡率低于 5%。选择健康、反应灵敏、大小基本一致的红鲫,随机分为 4 组,每组 20 尾,分别用 1/8LC<sub>50</sub>、1/4LC<sub>50</sub>、1/2LC<sub>50</sub> 处理红鲫 96 h,各组 Cu<sup>2+</sup> 浓度分别为 4.925、9.85、19.9 mg/L。试验用水为曝气 3 d 的自来水,每组 20 L,24 h 不间断充氧,溶解氧浓度为 6 mg/L, pH 值为 6.8,水温

Japan J Ichthyl, 1974, 21(3):158-164.

- [6] Manna G K, Prasad R. Cytological evidence for two forms of *Mystus vittatus* (Block) as two species[J]. Nucleus, 1974, 17:4-8.
- [7] 刘良国, 邹万生, 杨春英, 等. 洞庭湖水系黄颡鱼的形态差异及染色体组型[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(29):17939-17941.
- [8] 杨春英, 贺一原, 郭沐林, 等. 洞庭湖水系沉水和漂水 2 种黄颡鱼的形态及染色体组型研究[J]. 湖南文理学院学报:自然科学版, 2011, 23(4):57-61.
- [9] 余先觉, 周 瞰, 李渝成, 等. 中国淡水鱼染色体[M]. 北京:科学出版社, 1989.
- [10] 张耀光, 王德寿. 短尾拟鲮分类地位的探讨[J]. 水生生物学报, 1996, 20(4):379-382.
- [11] 戴凤田, 苏锦祥. 鲮科八种鱼类同工酶和骨骼特征分析及系统演化的探讨(鲮形目:鲮科)[J]. 动物分类学报, 1998, 23(4):432-439.
- [12] 彭作刚, 何舜平, 张耀光. 细胞色素 b 基因序列变异与东亚鲮科鱼类系统发育[J]. 自然科学进展, 2002, 12(6):596-600.
- [13] 张 燕, 张 鹏, 何舜平. 中国鲮科鱼类线粒体 DNA 控制区结构及其系统发育分析[J]. 水生生物学报, 2003, 27(5):463-467.

收稿日期:2013-07-15

基金项目:江苏省徐州市科技计划(编号:XF11C051);江苏省化学生物学优势学科基金。

作者简介:郑桂红(1977—),女,山东郯城人,讲师,主要从事动物生理学教学和科研工作。E-mail:ghzhenghf@163.com。

科鱼类分类系统<sup>[1]</sup>中的短尾拟鲮<sup>[10]</sup>、切尾拟鲮<sup>[12]</sup>、圆尾拟鲮<sup>[12-13]</sup>应归入鲮属。本研究对鲮属鱼类的核型分析也表明,鲮属鱼类在鲮科鱼类中是一类特化的类群,这与前人研究结果一致,而对于黄颡鱼属、拟鲮属、鲮属的分类地位和归属问题,还须综合形态、生化、分子生物学等多种方法,对更多的鲮科鱼类种类进行研究。

## 参考文献:

- [1] 褚新洛, 郑葆珊, 戴定远. 中国动物志:硬骨鱼纲:鲮形目[M]. 北京:科学出版社, 1999.
- [2] 咎瑞光. 滇池两种类型鲫鱼的性染色体和 C-带核型研究[J]. 云南大学学报:自然科学版, 1981, 9(2):65-73.
- [3] Levan A, Tred K, Sandberg A A. Nomenclature for centromeric position on chromosomes[J]. Hereditas, 1964, 52(2):201-220.
- [4] 洪云汉, 周 瞰. 鲮科九种鱼的核型研究[J]. 动物学研究, 1984, 9(增刊):26-28.
- [5] Ueno K. Chromosome polymorphism and variant of isozymes in geographical population of *Pseudobagrus aurantiacus*, Bagridae[J].

( $23 \pm 1$ )  $^{\circ}\text{C}$ , 试验前 24 h 停止饲喂。急性毒性 96 h 后, 每组随机选取 6 条红鲫测定指标。

## 1.2 方法

1.2.1 组织匀浆制备 将红鲫解剖, 取出肌肉、肝胰脏、鳃等组织, 用冰生理盐水做成 1%、10% 的组织匀浆, 以 3 000 r/min 离心 10 min 制备组织匀浆液, 测定生化指标。

1.2.2 生化指标测定 用生化指标试剂盒(南京建成生物研究所)、UV-722 型紫外可见分光光度计测定各项生化指标。用考马斯亮蓝法测定蛋白含量(TP); 用 TBA 法测定丙二醛含量(MDA); 用羟胺法测定超氧化物歧化酶活性(SOD); 用可见分光光度计法测定过氧化氢酶活性(CAT); 用比色法测定谷胱甘肽-S-转移酶活性(GST)。

## 1.3 数据处理

采用 SPSS 19.0 软件分析数据。

## 2 结果与分析

### 2.1 铜对红鲫行为与形态学影响

试验期间, 对照组红鲫游动灵活、反应灵敏; 处理组红鲫身体歪斜, 反应稍显迟钝、游动略迟缓。肌肉颜色无明显变化, 但部分红鲫鳞片出现黑斑。对照组红鲫肝胰脏鲜红, 处理组肝脏颜色明显变深。对照组鳃新鲜, 呈鲜亮的红, 处理组鳃颜色较深, 且黏液较多。

### 2.2 组织测定

2.2.1 重金属铜对红鲫组织蛋白含量的影响 由图 1 可知, 与对照相比, 1/8  $\text{LC}_{50}$  组、1/4  $\text{LC}_{50}$  组、1/2  $\text{LC}_{50}$  组红鲫肌肉蛋白含量分别增加 10.84%、43.75%、54.19%; 与对照相比, 1/8  $\text{LC}_{50}$  组、1/4  $\text{LC}_{50}$  组、1/2  $\text{LC}_{50}$  组中肝胰脏蛋白含量分别增加 15.59%、30.29%、39.25%; 与对照相比, 1/8  $\text{LC}_{50}$  组、1/4  $\text{LC}_{50}$  组、1/2  $\text{LC}_{50}$  组鳃蛋白含量分别增加 14.95%、20.34%、30.21%。随着水中铜浓度升高, 其对红鲫组织的损伤程度增大, 导致细胞破损严重, 蛋白流出。

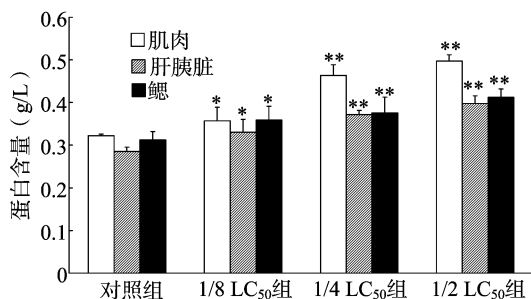


图1 重金属铜对红鲫组织蛋白含量的影响

### 2.2.2 重金属铜对红鲫组织氧化物歧化酶(SOD)的影响

由图 2 可知, 与对照相比, 1/8  $\text{LC}_{50}$  组红鲫肌肉中 SOD 活力增加, 1/4  $\text{LC}_{50}$  组、1/2  $\text{LC}_{50}$  组 SOD 活力减少; 与对照相比, 肝胰脏 1/8  $\text{LC}_{50}$  组、1/4  $\text{LC}_{50}$  组、1/2  $\text{LC}_{50}$  组中 SOD 活力分别增加 54.60%、160.78%、26.07%; 与对照相比, 鳃中 1/8  $\text{LC}_{50}$  组、1/4  $\text{LC}_{50}$  组、1/2  $\text{LC}_{50}$  组中 SOD 活力分别增加 385.13%、-12.84%、-42.61%。这可能是由于低浓度的铜能增加机体 SOD 含量; 随着铜浓度升高, 组织中超氧阴离子自由基逐渐增加, SOD 对其具有专一性抑制作用, 可消除部分自由基。

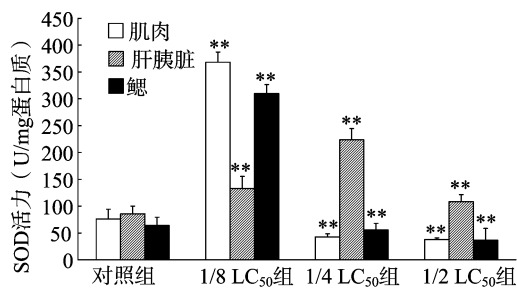


图2 重金属铜对红鲫组织SOD活力的影响

铜离子浓度越大, 为了维持机体氧化、抗氧化平衡, SOD 消耗越多, 其活性越小。

### 2.2.3 重金属铜对红鲫组织过氧化氢酶(CAT)活力的影响

由图 3 可知, 随着铜浓度的增加, 3 种组织中 CAT 活性均呈先增加后下降趋势。与对照相比, 1/8  $\text{LC}_{50}$  组肌肉中 CAT 活力增加了 44.85%, 1/4  $\text{LC}_{50}$  组、1/2  $\text{LC}_{50}$  组分别降低了 13.40%、25.86%; 与对照相比, 1/8  $\text{LC}_{50}$  组、1/4  $\text{LC}_{50}$  组肝胰脏中 CAT 活力分别增加了 44.95%、11.67%, 1/2  $\text{LC}_{50}$  组降低了 18.46%; 与对照相比, 1/8  $\text{LC}_{50}$   $\text{LC}_{50}$  组鳃中 CAT 活力增加了 56.44%, 1/4  $\text{LC}_{50}$  组、1/2  $\text{LC}_{50}$  组分别降低了 12.99%、49.42%。这可能是由于短时间的铜处理促使机体产生 CAT, 随着处理时间的延长, 红鲫组织内超氧阴离子自由基过多, 代谢过程中机体产生大量过氧化氢, 对机体造成损坏。重金属铜对红鲫组织的 CAT 活力有抑制作用, 鳃 1/2  $\text{LC}_{50}$  组下降较多, 这可能是由于鳃直接接触水体, 鳃组织损伤较为严重。

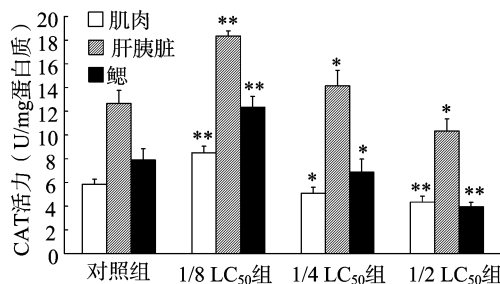


图3 重金属铜对红鲫组织CAT活力的影响

### 2.2.4 重金属铜对红鲫组织谷胱甘肽硫转移酶(GST)的影响

由图 4 可知, 随着铜浓度的增加, 红鲫组织中 GST 活力逐渐下降。与对照相比, 肌肉 1/8  $\text{LC}_{50}$  组、1/4  $\text{LC}_{50}$  组、1/2  $\text{LC}_{50}$  组 GST 活力分别下降 12.10%、19.78%、37.43%; 与对照相比, 肝胰脏 1/8  $\text{LC}_{50}$  组、1/4  $\text{LC}_{50}$  组、1/2  $\text{LC}_{50}$  组 GST 活力分别下降 28.49%、35.22%、41.28%; 与对照相比, 鳃 1/8  $\text{LC}_{50}$  组、1/4  $\text{LC}_{50}$  组、1/2  $\text{LC}_{50}$  组 GST 活力分别下降 21.12%、28.35%、34.53%。GST 活力与肝脏解毒功能有关, 并且其在肝脏中大量存在。随着铜浓度的增大, 机体细胞被破坏, GST 被释放到血液中, 组织中 GST 活力大大降低, 铜对红鲫组织中的 GST 活力有抑制作用。

### 2.2.5 重金属铜对红鲫组织丙二醛(MDA)含量的影响

由图 5 可知, 随着铜浓度的增加, 与对照组相比, 肝胰脏中 1/8  $\text{LC}_{50}$  组、1/4  $\text{LC}_{50}$  组、1/2  $\text{LC}_{50}$  组 MDA 的含量分别增加 36.18%、109.19%、123.81%; 与对照组相比, 鳃 1/8  $\text{LC}_{50}$  组、1/4  $\text{LC}_{50}$  组、1/2  $\text{LC}_{50}$  组的 MDA 含量分别增加 17.86%、36.53%、

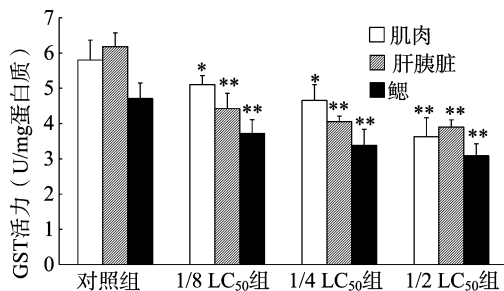


图4 重金属铜对红鲫组织GST活力的影响

70.79%。MDA 含量主要反映机体内部脂质过氧化程度,即机体内部遭受自由基攻击的程度。与对照组相比,肌肉 1/8 LC<sub>50</sub> 组 MDA 含量增加 363.14%,推测细胞遭受了自由基攻击,脂质过氧化程度增加;与对照组相比,肌肉 1/4 LC<sub>50</sub> 组增加 128.74%,这可能是由于随着铜浓度的增加,SOD 清除自由基,避免细胞过度损伤;与对照组相比,1/2 LC<sub>50</sub> 组增加 180.63%,这可能是由于为了清除自由基,SOD 消耗过大,活性大大降低,不能完全弥补组织损伤。

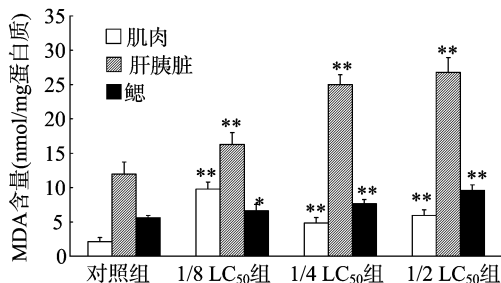


图5 重金属铜对红鲫组织MDA含量的影响

### 3 结论与讨论

铜是人体必需的微量元素,在工业、农业、医药、国防等方面发挥重要的作用,但过量的铜会对动物机体造成极大危害。徐丽丽研究发现,铜对鲮鱼是剧毒物质<sup>[4]</sup>。丁为群等研究表明,鱼在重金属胁迫下 SOD、CAT、GST 活性降低<sup>[8]</sup>,这与本试验结果一致。本研究表明,铜浓度越大,对红鲫的氧化损伤越严重,同时机体有一套自我修复程序,能不同程度修复损伤。当损伤的程度超过一定范围时,机体会出现明显病变。铜胁迫下,红鲫呈现身体歪斜、反应迟钝、游动迟缓等现象,部分红鲫鳞片有黑斑;肝胰脏、鳃部颜色变深,且鳃黏液较多,这与其他学者研究结论<sup>[11-13]</sup>相似。铜胁迫下,鱼体脂质过氧化程度增大,MDA 含量明显升高。脂质过氧化导致其体内产生大量的超氧阴离子自由基,造成了细胞损伤。机体内部为维持氧化、抗氧化平衡,会产生 SOD 来抑制超氧化阴离子自由基,降低 MDA 含量。随着铜浓度的增加,SOD 活性因修复作用而逐渐降低,MDA 含量增大,细胞中的蛋白大量流失,导致红鲫肌肉、肝胰脏、鳃蛋白含量明显升高。由于超氧阴离子自由基

的存在,机体代谢过程产生过氧化氢,对机体造成损伤,为了避免这种状况,机体分泌过氧化氢酶将有害物质分解成无毒害或毒害小的物质,故红鲫组织中 CAT 活性逐渐降低。肝脏作为机体内部重要的解毒器官,起着重要的解毒作用,肝细胞中的 GST 酶与肝脏解毒功能关系密切。当肝脏受到损害时,GST 被释放到血液中,导致血液中 GST 含量升高,肝脏等组织内 GST 活力降低,随着铜浓度增加,肝脏内 GST 活力呈下降趋势<sup>[8,14-16]</sup>。当水中铜浓度增加时,红鲫组织内蛋白与 MDA 含量升高,GST、CAT、SOD 活性降低,对红鲫组织的氧化损伤作用严重,已经超出红鲫自身机体的修复作用,当损害持续加重时,可能导致红鲫死亡。

### 参考文献:

- [1] 吴邦灿,费龙. 现代环境监测技术[M]. 北京:中国环境科学出版社,1999:252-254.
- [2] 尚晓迪,何志强. 重金属在鱼体内积累作用的研究进展[J]. 河北渔业,2009(5):44-45.
- [3] 杨丽华,方展强,郑文彪. 重金属对鲫鱼的急性毒性及安全浓度评价[J]. 华南师范大学学报:自然科学版,2003,5(2):101-106.
- [4] 徐丽丽. 重金属铜对鲮鱼的急性毒性试验[J]. 中国高新技术企业,2007(4):104-105.
- [5] 陈冬梅,刘维德. 铜、铁、锌、锰不同组合水平对鲤鱼生长的影响[J]. 饲料工业,2003,24(4):50-52.
- [6] 周新文,朱国念,Mwalilino J,等. 重金属离子 Cu Zn Cd 的相互作用对 Pb 在鲫鱼组织中积累的影响[J]. 农业环境保护,2002,21(1):23-25,36.
- [7] 张冰艳,蔺玉华,关海虹,等. 铜、锌双因子对幼鲤鱼及草鱼胚胎的毒性影响[J]. 水产学杂志,1996,9(1):58-61.
- [8] 丁为群,刘迪秋,葛锋,等. 鱼类对重金属胁迫的分子反应机理[J]. 生物学杂志,2012,29(2):84-87.
- [9] 吴端生,郑家铨,刘冬娥,等. 红鲫实验动物生物学特性的研究[J]. 中国实验动物学杂志,1997,7(2):79-81.
- [10] 谭翔文,吴端生,许金华,等. 红鲫实验动物含肉率及营养成分分析[J]. 中国比较医学杂志,2008,18(1):39-42.
- [11] 戴家银,郑微云,王淑红. 重金属和有机磷农药对真鲷和平鲷幼体的联合毒性研究[J]. 环境科学,1997,5(5):46,54.
- [12] 吴贤汉,江新霖,张宝录,等. 几种重金属对青岛文昌鱼毒性及生长的影响[J]. 海洋与湖沼,1999,30(6):604-608.
- [13] 贺亮. 铜在鲫鱼中的积累机制及其影响因素的研究[D]. 成都:成都理工大学,2007.
- [14] 张朝晖,王婧,李程,等. 铜对红鲫组织超氧化物歧化酶活性的影响[J]. 南华大学学报:医学版,2009,37(6):636-638.
- [15] 刘亮,董绪燕,孙智达. Cu(II)、Zn(II)、Cd(II)和 Pb(II)对鲫体内超氧化物歧化酶活性的影响[J]. 大连水产学院学报,2008,23(6):462-465.
- [16] 张颺,李永清,高轩. 谷胱甘肽 S-转移酶综述[J]. 吉林畜牧兽医,2006,27(6):11-13.