

郑桂红,唐玲玲,孙建梅,等. 重金属锌对锦鲤组织氧化损伤的作用[J]. 江苏农业科学,2014,42(3):187-189.

# 重金属锌对锦鲤组织氧化损伤的作用

郑桂红, 唐玲玲, 孙建梅, 刘缙民, 程 超, 冯照军

(江苏师范大学生命科学学院,江苏徐州 221116)

**摘要:**为研究重金属锌胁迫条件下锦鲤组织内发生的氧化损伤作用,采用静水生物养殖法,进行 6 d 的亚急性毒性试验。把 80 尾锦鲤随机分为 4 组,每组 20 尾,分别用 11.625、23.250、46.500 mg/L 锌对锦鲤处理 96 h,6 d 后分别测定锦鲤肌肉、肝胰脏、鳃中蛋白质和丙二醛(MDA)含量以及超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)和谷胱甘肽-S-转移酶(GST)的活性。结果表明:随着锌浓度的升高,肌肉、肝胰脏和鳃中的蛋白质含量增加;中低浓度的锌溶液能激活 SOD 活性,而高浓度则会抑制 SOD 活性( $P < 0.05$ );MDA 含量随着锌溶液浓度的升高而增加( $P < 0.01$ );GSH-Px、GST 的活性随着锌溶液浓度的升高而减弱( $P < 0.05$ )。不同浓度的锌的亚急性毒性对锦鲤肌肉、肝胰脏、鳃氧化损伤作用,能够为预防和治理锌对锦鲤养殖和淡水渔业水环境的污染提供一定的理论参考。

**关键词:**重金属锌;锦鲤;氧化损伤

**中图分类号:** S943.116.6 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2014)03-0187-03

锌是动物机体必需的微量元素,在动物正常生长发育和生理代谢过程中发挥着重要作用,但其过量时会对动物的正常生长造成伤害。随着重金属锌及其化合物在工业、农业和畜牧业中的广泛应用,重金属锌在水体中的污染程度也日益加剧,重金属锌对水生生物的影响受到国内外学者的普遍关注。水生生物因生存在水环境中,对水环境的变化十分敏感,研究表明,锌对水生生物产生的毒害作用远大于对人体产生的毒害性,轻度的锌污染可通过生物链的逐级富集增强其对人类健康的危害程度<sup>[1-2]</sup>。水环境中的  $Zn^{2+}$  具有非常强的扩散性,因其不能由正常的水处理方法来解离而加重了污染程度。锌污染严重影响水环境的生态平衡,威胁水生生物的生存。作为高等水生生物,鱼类也深受水体中重金属的胁迫,并且由于其吸食与重金属污染水体直接接触的饵料、通过鳃呼吸、鱼体皮肤直接接触被污染重金属的水而加重重金属在体内的积累,最终通过代谢活动等途径而导致鱼体组织器官发生病变而出现中毒<sup>[3]</sup>。

超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、谷胱甘肽-S-转移酶(GST)是反映污染物对细胞组织损伤的敏感性生化指标。它们能从分子水平上反映重金属对鱼体组织产生的氧化损伤作用。许多学者作了大量关于重金属锌对水生生物的影响的研究,例如,杨丽华等发现,低浓度锌的急性毒性能提高鲫鱼的肝胰脏和鳃的 SOD 活性,高浓度锌的急性毒性则会抑制其活性,其抑制效应具有时间和浓度依赖性<sup>[4]</sup>。刘慧等发现,低浓度的锌暴露可抑制鲫鱼组织 SOD、CAT 和 GSH-Px 的活性,锌在低浓度时激活、高浓度时抑制 GST 的活性<sup>[5]</sup>。卢斌等研究发现,低浓度锌的

亚急性毒性可以增加白氏文昌鱼组织的 MDA 含量<sup>[6]</sup>。沙保勇等发现,不同浓度纳米氧化锌可刺激大鼠肝脏细胞活性氧(ROS)的产生,促使细胞谷胱甘肽(GSH)含量减少,其原因在于锌先诱导细胞氧化应激,后诱导细胞凋亡<sup>[7]</sup>。这些试验为重金属锌的毒理学研究提供了丰富的资料,但关于锌的亚急性毒性对鱼类影响的研究尚不多见。为了研究水中  $Zn^{2+}$  亚急性毒性对组织氧化损伤的作用,在  $Zn^{2+}$  对锦鲤 96 h  $LC_{50}$  为 93 mg/L<sup>[8]</sup> 的基础上,选用鲤科鲤属的培育品种锦鲤为试验动物,研究不同浓度  $Zn^{2+}$  的亚急性毒性对锦鲤组织抗氧化酶的影响,以期为预防和治理锦鲤的养殖水环境的重金属污染和淡水渔业重金属污染提供一定的理论参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料

试验所用的红白锦鲤购自徐州佳顺锦鲤养殖基地,体长 5~7 cm,体重 4~7 g/尾。采用静水生物养殖法在室内水族箱内进行为期 1 周的预试验,锦鲤暂养期间活动正常,无病,死亡率低于 5%。试验用水为曝气 3 d 的自来水,每组 20 L,24 h 不间断充氧,溶氧量为 6 mg/L,pH 值 6.8,水温  $(23 \pm 1)^\circ\text{C}$ ,试验前 24 h 停止饲喂。选择品相较好、活泼健康的红白锦鲤 80 尾,随机分成 4 组,3 个处理组中  $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$  浓度分别为 11.625、23.250、46.500 mg/L。试验期间不饲喂、不换水。亚急性毒性 6 d 后随机抽取 6 尾锦鲤,剖取其肌肉、肝胰脏、鳃,用冰的生理盐水组织匀浆,以 3 000 r/min 离心 10 min 制备组织上清液,测定生化指标。

### 1.2 试验方法

使用生化指标试剂盒(南京建成生物研究所)和 UV-722 型紫外可见分光光度计测定各项生化指标——蛋白质含量(考马斯亮蓝法)、丙二醛含量(TBA 法)、超氧化物歧化酶活性(羟胺法)、谷胱甘肽过氧化物酶活性(比色法)、谷胱甘肽-S-转移酶活性(比色法)。

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(编号:PAPD)。

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

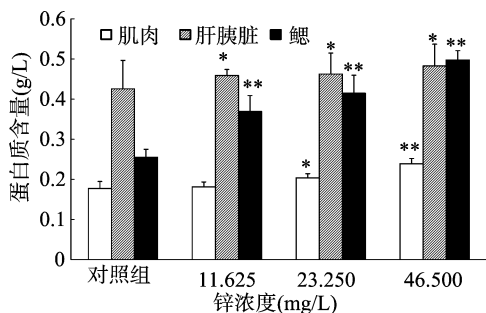
### 1.3 试验数据处理

试验数据统计分析使用软件 SPSS 19.0 求平均值, 标准差和  $t$  检验。

## 2 结果与分析

### 2.1 重金属锌的亚急性毒性对锦鲤组织中蛋白质含量的影响

由图 1 可知, 在锦鲤肌肉、肝胰脏以及鳃组织中的蛋白质含量均随着锌溶液浓度的升高而递增。与对照相比, 11.625、23.250、46.500 mg/L 组的锦鲤肌肉中蛋白质含量分别增加 2.23%、14.81%、34.59%, 锌溶液浓度增加到 23.250 mg/L 时, 与对照组差异显著 ( $P < 0.05$ ); 11.625、23.250、46.500 mg/L 组的锦鲤肝胰脏中蛋白质含量分别增加 7.84%、8.69%、13.47% ( $P < 0.05$ ); 11.625、23.250、46.500 mg/L 组的锦鲤鳃中蛋白质含量分别增加 45.03%、62.70%、95.19% ( $P < 0.01$ )。



\*, \*\* 分别表示与对照相比差异显著 ( $P < 0.05$ )、极显著 ( $P < 0.01$ )。下同。

图1 重金属锌的亚急性毒性对锦鲤组织中蛋白质含量的影响

### 2.2 重金属锌的亚急性毒性对锦鲤组织中 SOD 活性的影响

由图 2 可知, 在锦鲤肌肉、肝胰脏以及鳃组织中, SOD 活性均随着锌浓度的升高先增强后减弱。与对照组相比, 11.625、23.250 mg/L 组的锦鲤肌肉中 SOD 活性分别增强 17.52%、269.54%, 46.500 mg/L 组则减弱 40.98% ( $P < 0.05$ ); 11.625、23.250、46.500 mg/L 组的锦鲤肝胰脏中 SOD 活性分别增强 1.17%、49.65%、22.50% ( $P < 0.05$ ); 11.625、23.250、46.500 mg/L 组的锦鲤鳃中 SOD 活性分别增强 21.19%、150.72%、101.56%。

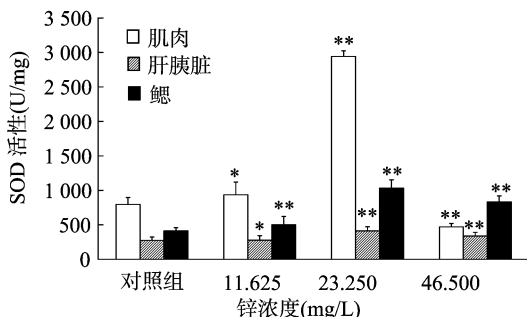


图2 重金属锌的亚急性毒性对锦鲤组织 SOD 活性的影响

### 2.3 重金属锌的亚急性毒性对锦鲤组织中 MDA 含量的影响

由图 3 可知, 锦鲤肌肉、肝胰脏以及鳃组织中的 MDA 含量均随着锌浓度的升高而递增。与对照组相比, 11.625、

23.250、46.500 mg/L 组的锦鲤肌肉中 MDA 含量分别增加 93.05%、364.39%、400.76% ( $P < 0.01$ ); 11.625、23.250、46.500 mg/L 组的锦鲤肝胰脏中 MDA 含量分别增加 69.81%、115.62%、441.97% ( $P < 0.01$ ); 11.625、23.250、46.500 mg/L 组的锦鲤鳃中 MDA 含量分别增加 5.52%、276.78%、236.69% ( $P < 0.01$ )。

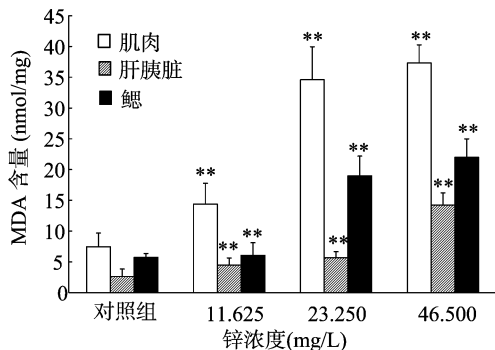


图3 重金属锌的亚急性毒性对锦鲤组织中 MDA 含量的影响

### 2.4 重金属锌的急性毒性对锦鲤组织中 GSH-Px 活性的影响

由图 4 可知, 锦鲤肌肉、肝胰脏以及鳃组织中 GSH-Px 活性均随着锌浓度的升高而递减。与对照组相比, 11.625、23.250、46.500 mg/L 组的锦鲤肌肉中 GSH-Px 活性分别减弱 17.26%、36.16%、53.22%, 且 11.625 mg/L 组即与对照组差异显著 ( $P < 0.05$ )。11.625、23.250、46.500 mg/L 组的锦鲤肝胰脏中 GSH-Px 活性分别减弱 3.85%、13.01%、41.27%, 46.500 mg/L 组与对照组差异极显著 ( $P < 0.01$ ), 其余 2 组与对照组差异显著 ( $P < 0.05$ )。11.625、23.250、46.500 mg/L 组的锦鲤鳃中 GSH-Px 活性分别减弱 14.83%、28.38%、36.02%, 且 11.625 组即与对照组差异显著 ( $P < 0.05$ ), 其余 2 组与对照组差异极显著 ( $P < 0.01$ )。

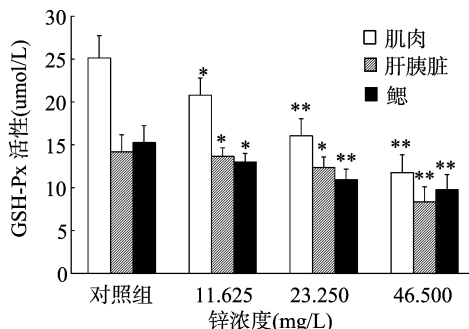


图4 重金属锌的亚急性毒性对锦鲤组织中 GSH-Px 活性的影响

### 2.5 重金属锌的急性毒性对锦鲤组织中 GST 活性的影响

由图 5 可知, 锦鲤肌肉、肝胰脏以及鳃组织中, GST 活性均随着锌浓度的升高而递减。与对照组相比, 11.625、23.250、46.500 mg/L 组的肌肉中 GST 活性分别减弱 30.64%、57.56%、87.21% ( $P < 0.01$ ); 11.625、23.250、46.500 mg/L 组的锦鲤肝胰脏中的 GST 活性分别减弱 29.31%、64.40%、73.45% ( $P < 0.01$ ); 11.625、23.250、46.500 mg/L 组的锦鲤鳃中 GST 活性分别减弱 19.92%、47.93%、75.23%, 且 11.625 mg/L 组与对照组差异显著 ( $P < 0.05$ ), 其余 2 组与对照组差异极显著 ( $P < 0.01$ )。

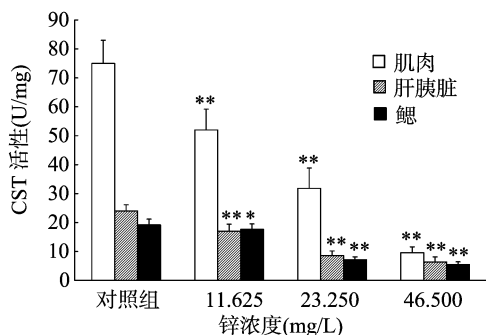


图5 重金属锌的亚急性毒性对錦鲤组织中 GST 活性的影响

### 3 结论与讨论

SOD、GSH - Px、GST 等抗氧化酶是氧化应激的重要指标,也是监测环境污染的生物标志物<sup>[9-10]</sup>,锌的亚急性毒性作用能诱导錦鲤组织的氧化应激,使錦鲤组织的抗氧化酶系统发生变化,最终导致錦鲤组织的氧化损伤。有研究发现,当锌浓度从 11.625 mg/L 上升至 46.500 mg/L 时,錦鲤组织中 SOD 活性先升高后降低,这与孔强等关于重金属铜、镉、铬的联合对孔雀鱼肝脏抗氧化酶影响的研究结果一致,其原因可能是低浓度的锌能促进组织内 SOD 合成增多,以消除自由基,保护錦鲤组织细胞免受损伤;高浓度的锌使得 SOD 某些基团失活、组织中 SOD 的活性减弱<sup>[11-13]</sup>,同时由于 SOD 的失活,錦鲤细胞膜受重金属诱导产生过多的自由基而攻击细胞膜脂中的不饱和脂肪酸,从而破坏细胞膜的完整性,扰乱细胞功能,进而引起 DNA、蛋白质等的损伤和产生过多的脂质过氧化产物 MDA。錦鲤组织内的 MDA 含量随着锌浓度的升高而增加。由于錦鲤组织内自由基以及脂质过氧化物的产生,錦鲤组织内 GSH - Px 以及 GST 的活性随着锌浓度的升高而减弱,可能是清除体内因锌浓度升高而产生过多的自由基和过氧化脂质所致,这与刘慧等发现的“低剂量的锌离子暴露抑制 GSH - Px 活性、且 GSH - Px 活性抑制与暴露浓度之间存在负相关”结果<sup>[5]</sup>相一致,而与孔强等研究发现的“GSH - Px 活性随着重金属浓度的升高先升高后降低”的结果<sup>[13]</sup>不一致,其具体的机理还有待于进一步研究。重金属锌诱导錦鲤组织抗氧化酶的变化及其产生的氧化损伤,对了解

水环境的重金属污染以及水环境污染的预防和治理具有一定的意义。

### 参考文献:

- [1] Hansen B H, Rømma S, Garmo Ø A, et al. Induction and activity of oxidative stress - related proteins during waterborne Cd/Zn - exposure in brown trout (*Salmo trutta*) [J]. Chemosphere, 2007, 67 (11): 2241 - 2249.
- [2] 吴丰昌, 冯承莲, 曹宇静, 等. 锌对淡水生物的毒性特征与水质基准的研究[J]. 生态毒理学报, 2011, 6(4): 367 - 382.
- [3] 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.
- [4] 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(2): 101 - 106.
- [5] 刘 慧, 王晓蓉, 王为木, 等. 不同形态锌离子对鲫鱼谷胱甘肽系统的影响[J]. 中国环境科学, 2005, 25(2): 169 - 173.
- [6] 卢 斌, 柯才煊, 王文雄. 低浓度镉、锌暴露对白氏文昌鱼的毒性累积及其几种重要酶活性的影响[J]. 厦门大学学报: 自然科学版, 2012, 51(4): 767 - 773.
- [7] 沙保勇, 徐 峰, 卢天健. 纳米氧化锌对大鼠肝及肝癌细胞的毒性效应[J]. 西安交通大学学报: 医学版, 2012, 33(3): 266 - 270.
- [8] 贺诗水, 王洪凯. 锌离子对錦鲤的急性毒性及安全浓度评价[J]. 广东农业科学, 2010, 34(7): 147 - 148.
- [9] 戴 伟. 水生动物重金属污染生物标志物的研究进展[J]. 水生生态杂志, 2010, 3(6): 116 - 119.
- [10] 翁善钢. 鱼类对金属和类金属氧化应激反应研究进展[J]. 水产科技情报, 2012, 39(5): 258 - 262.
- [11] 熊昀青, 由文辉. 苏州河底泥对铜锈环棱螺 (*Bellamya aeruginosa*) SOD 和 CAT 的影响[J]. 华东师范大学学报: 自然科学版, 2002(4): 96 - 101.
- [12] Choi C Y, An K W, Nelson E R, et al. Cadmium affects the expression of metallothionein (MT) and glutathione peroxidase (GPX) mRNA in goldfish, *Carassius auratus* [J]. Comparative Biochemistry and Physiology Toxicology & Pharmacology, 2007, 145(4): 595 - 600.
- [13] 孔 强, 赵 岩, 付荣恕. 3 种重金属联合对孔雀鱼肝脏抗氧化酶系统的影响[J]. 供水技术, 2010, 4(6): 10 - 13.