

宋波澜,申亮,李代宗,等. 锌离子对杂交鲟幼鱼行为生理、血细胞和抗氧化酶的影响[J]. 江苏农业科学,2014,42(11):256-258.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2014.11.092

# 锌离子对杂交鲟幼鱼行为生理、血细胞和抗氧化酶的影响

宋波澜,申亮,李代宗,张华

(河北农业大学海洋学院水产科学系,河北秦皇岛 066003)

**摘要:**在室内条件下,研究了锌离子对杂交鲟行为,血细胞,以及血清中抗氧化酶活性的影响。分别设置锌离子浓度 0.1、0.5、1.0 mg/L 3 个浓度处理以及 1 个空白对照。分别在 24、48、72 h 3 个时间段取样测定。结果表明,锌离子对杂交鲟的行为指标和血细胞有相似的影响趋势,即在 24 h 和 48 h 时,随着浓度的增大,杂交鲟的呼吸率和摆尾率逐渐增大,红细胞数目含量逐渐增多;但随着暴露时间的延长,杂交鲟的呼吸率、摆尾率、红细胞数目逐渐降低。锌离子对杂交鲟白细胞、抗氧化酶活性的作用表现出一定的剂量效应:即白细胞和 3 种抗氧化酶活性均随着锌离子浓度的增加表现出先升高后降低;同一浓度下,随锌离子作用时间的延长,白细胞和抗氧化酶活性明显降低。说明锌离子低浓度时对杂交鲟抗氧化酶活性和免疫细胞有明显的诱导作用,高浓度时则抑制其免疫和抗氧化功能。

**关键词:**锌离子;杂交鲟;行为指标;血细胞;抗氧化酶

**中图分类号:**S965.215;S917 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2014)11-0256-03

锌是水生动物必需的一种微量元素,它参与了动物有机体多种金属酶的激活和形成,在骨骼发育、生殖、免疫和生物膜稳定等生理机能中担负重要角色<sup>[1]</sup>。锌又是有毒重金属元素,过量的锌会在体内富集,对蛋白质和酶产生毒害作用<sup>[2]</sup>。关于锌离子对鱼类行为和生理功能的影响国内外已有一些报道,但不同浓度的锌离子对不同种类鱼类的影响程度却不尽相同<sup>[3-7]</sup>。鲟鱼(*Sturgeon*)隶属于硬骨鱼纲(Dsteichthyes)鲟形目(Acipenseriformes),是当今最具经济价值的大型优质珍稀鱼类之一<sup>[8]</sup>。其中杂交鲟[欧洲鳇(*Huso huso* Linnaeus)×小体鲟(*Acipenser ruthenus* Linnaeus)]由于其具有容易饲养、耗饲少、抗病虫害能力强、成活率高、生长速度快、饲料耗用系数少等优势,成为我国主要的养殖鲟类<sup>[9]</sup>。目前,杂交鲟的人工养殖和基础生理学已有相当的研究<sup>[9-11]</sup>,但重金属离子对其生理生化影响的研究还不多见。本试验以不同浓度重金属锌离子对杂交鲟进行处理,研究其行为和生

理指标的变化规律,以期对鲟鱼养殖以及判断养殖水体中污染物的毒性提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

本试验于 2013 年 6—7 月在河北农业大学海洋学院科研中心育苗室进行。试验用鱼为从河北省秦皇岛市海浪花市场购买的杂交鲟幼鱼,选择健康活跃且规格相近的幼鱼 140 尾作为试验用鱼[体质量( $762.0 \pm 49.3$ ) g,体长( $59.7 \pm 1.1$ ) cm]。试验在聚乙烯塑料水族箱(100 cm×78 cm×60 cm)进行。试验前供试鲟鱼在室内静水中驯养 5 d 以上。试验期间连续充气,保持充足的氧气( $\geq 6.0$  mg/L)和恒定的水温[( $20.0 \pm 1.0$ ) °C],pH 值 7.2~7.4。

### 1.2 试验设计

采用静水法对杂交鲟进行染毒处理。用分析纯的硫酸锌配成 1 mg/mL 的母液。根据杂交鲟 96 h LC<sub>50</sub> 值确定试验浓度。试验设定锌离子 0.1、0.5、1.0 mg/L 3 个离子梯度组和 1 个空白对照组(0 mg/L),每梯度组均设 9 个平行组。试验开始后于 24、48、72 h 时取样,每阶段每梯度组水箱取 9 尾鱼作为样品。

### 1.3 测定指标及方法

#### 1.3.1 行为生理指标 使用摄像机从实验水槽正上方拍摄

及经济效益分析[J]. 江苏农业科学,2013,41(8):217-219.

[3] 栾生,边文冀,邓伟,等. 斑点叉尾鲟基础群体生长和存活性状遗传参数估计[J]. 水产学报,2012,36(9):1313-1321.

[4] 董桂芳,胡振雄,黄峰,等. 投喂频率对斑点叉尾鲟幼鱼生长、饲料利用和鱼体组成的影响[J]. 渔业现代化,2012,39(2):48-53.

[5] 朱佳杰,甘西,谢尔登,等. 放养规格、养殖密度和水深对吉富罗非鱼养殖效果的影响[J]. 水产科技情报,2012,39(2):99-101.

收稿日期:2014-01-10

基金项目:河北省科技支撑计划(编号:10220505);河北农业大学青年基金(编号:QJ201205);广东暨南大学普通高校重点实验室开放基金(编号:J201304)。

作者简介:宋波澜(1979—),男;湖南湘潭人,博士,讲师,主要从事鱼类生理与繁育研究。E-mail:39610321@qq.com。

了最好混养组合,这将为罗非鱼养殖业的健康持续发展提供技术参考。

## 参考文献:

[1] 朱佳杰,李莉萍,甘西,等. 温度诱导对吉富罗非鱼雄性率的影响[J]. 安徽农业科学,2012,40(2):830-831,862.

[2] 袁媛,袁永明,贺艳辉,等. 罗非鱼不同池塘养殖模式生产成本

鱼的游泳行为,每次拍摄持续 600 s,然后将所拍录像转换成 MPEG4 视频文件在计算机上分析摆尾频率和呼吸频率<sup>[12]</sup>。

用摄像机观察的方法记录一定时间内杂交鲟的摆尾次数和鳃张合次数,即可计算摆尾率(*TBF*)和呼吸频率(*RF*)。计算公式为:

$$TBF(Hz) = TBT/t;$$
$$RF = RRT/t。$$

式中:*TBT* 是每尾鱼在被观察期间的摆尾次数,*t* 为观察时间(s);*RRT* 是每尾鱼在被观察期间的呼吸次数,*t* 为观察时间(s)。

1.3.2 血液指标 用浸润过肝素钠的注射器从鱼体尾动脉中采血,用染色稀释法镜检计数红白细胞。

1.3.3 抗氧化酶 超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)和 丙二醛(MDA)的测定采用南京建成生物工程研究所的试剂盒进行测定,具体测定方法按照试剂盒的说明进行。超氧化物歧化酶(SOD)活力测定采用羟胺法,过氧化氢酶(CAT)

表 1 锌离子对杂交鲟呼吸频率和摆尾频率的影响

锌离子浓度 (mg/L)	呼吸频率(次/s)			摆尾频率(次/s)		
	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
0	1.95 ± 0.21b	1.91 ± 0.24b	1.81 ± 0.32a	0.74 ± 0.07b	0.68 ± 0.08b	0.73 ± 0.02a
0.1	1.79 ± 0.16b	1.85 ± 0.22b	1.27 ± 0.31b	0.70 ± 0.07b	0.55 ± 0.11b	0.53 ± 0.03b
0.5	2.49 ± 0.06a	2.32 ± 0.19a	1.45 ± 0.16b	0.71 ± 0.05b	0.62 ± 0.09b	0.47 ± 0.04b
1.0	2.41 ± 0.25a	2.56 ± 0.22a	1.42 ± 0.18b	1.27 ± 0.04a	1.03 ± 0.06a	0.49 ± 0.09b

注:数据为 9 个平行组的平均值;同列数据后不同小写字母表示差异达显著水平( $P < 0.05$ )。

锌离子处理杂交鲟后其摆尾率的变化为:同一时间内,24 h 和 48 h 时对照组与 0.1 mg/L 和 0.5 mg/L 处理组间差异不显著( $P > 0.05$ ),而锌离子浓度为 1 mg/L 梯度组显著高于其他组( $P < 0.05$ );72 h 时 3 个处理组间差异不显著( $P > 0.05$ ),但均显著低于对照组( $P < 0.05$ )。同一浓度下,对照组各时间段差异不显著( $P > 0.05$ ),而 3 个处理组,随着时间的延长,活动放缓,摆尾频率显著减慢( $P < 0.05$ ),运动能力降低。

2.2 锌离子对杂交鲟血细胞的影响

锌离子处理杂交鲟后其红细胞数目的变化见表 2。同一时间内,24 h 和 48 h 时红细胞数有随锌离子浓度升高而显著升高的趋势;0.5 mg/L 和 1mg/L 处理组显著高于对照组和

活性采用钼酸铵显色测定法,丙二醛(MDA)采用 TBA 法。

1.4 数据处理

试验数据用 Excel 进行常规计算后,用 SPSS 17.0 进行统计分析。数据均用平均值 ± 标准差表示,对各组数据的差异采用单因素方差分析并进行 Duncan 氏多重比较。

2 结果

2.1 锌离子对杂交鲟行为的影响

锌离子处理杂交鲟后其呼吸频率的变化见表 1。同一时间内,24 h 和 48 h 时 0.1 mg/L 处理组和对照组差异不显著( $P > 0.05$ ),0.5 mg/L 和 1 mg/L 处理组之间差异不显著( $P > 0.05$ ),但均显著高于对照组和 0.1 mg/L 处理组( $P < 0.05$ );72 h 3 个处理组之间差异不显著( $P > 0.05$ ),但均显著低于对照组( $P < 0.05$ )。同一锌离子浓度下对照组各时间段的呼吸频率差异不显著( $P > 0.05$ ),而 3 个处理组均随着时间的延长,呼吸放缓,呼吸频率在 72 h 均显著降低( $P < 0.05$ )。

0.1 mg/L 组( $P < 0.05$ )。而 72 h 时红细胞数反而随锌离子浓度升高而显著降低( $P < 0.05$ )。同一锌离子浓度下,对照组各时间段差异不显著( $P > 0.05$ ),而处理组随着时间的延长,红细胞均显著降低( $P < 0.05$ )。

锌离子处理杂交鲟后其白细胞数的变化为:同一时间内,3 个时间段锌离子浓度 0.1 mg/L 处理组白细胞数均最多,显著高于其他处理组( $P < 0.05$ )。白细胞数随锌离子浓度的升高先升高后降低。同一锌离子浓度下,对照组各时间段差异不显著( $P > 0.05$ ),而处理组随着时间的延长,白细胞除了锌离子浓度 0.1 mg/L 处理组变化不明显,其他组显著降低( $P < 0.05$ )。

表 2 锌离子对杂交鲟红细胞和白细胞的影响

锌离子浓度 (mg/L)	红细胞数量(×10 <sup>4</sup> 个/mL)			白细胞数量(×10 <sup>4</sup> 个/mL)		
	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
0	55 ± 2.3b	54 ± 5.1c	59 ± 2.1a	0.52 ± 0.11b	0.56 ± 0.09b	0.51 ± 0.05a
0.1	62 ± 5.4b	59 ± 2.5c	34 ± 3.7b	0.71 ± 0.12a	0.72 ± 0.15a	0.66 ± 0.26a
0.5	85 ± 6.9a	63 ± 4.2b	24 ± 5.6c	0.46 ± 0.15b	0.41 ± 0.08 b	0.33 ± 0.04b
1.0	91 ± 1.3a	78 ± 5.0a	16 ± 2.4d	0.36 ± 0.02c	0.37 ± 0.10b	0.21 ± 0.06b

注:数据为 9 个平行组的平均值;同列数据后不同小写字母表示差异达显著水平( $P < 0.05$ )。

2.3 锌离子对杂交鲟抗氧化酶活性的影响

锌离子处理杂交鲟后其血清中 CAT 酶活性的变化见表 3。同一时间内,24、48、72 h 时锌离子 0.1 mg/L 处理组过氧化氢酶活性最高,显著高于其他处理组和对照组( $P < 0.05$ )。CAT 酶活性随锌离子浓度的升高先升高后降低。同一浓度下,对照组各时间段随着时间延长差异均不显著( $P > 0.05$ ),而 3 个处理组的 CAT 酶活性随着时间的延长除 1 mg/L 组外,均明显降低( $P < 0.05$ )。

锌离子处理杂交鲟后其血清中 SOD 活性随锌离子浓度的升高先升高后降低。同一时间内,24、48、72 h 时锌离子浓度 0.1 mg/L 的处理 SOD 酶活性最高,显著高于其他处理组( $P < 0.05$ )。同一浓度下,对照组 SOD 活性随时间延长差异不显著( $P > 0.05$ ),而 3 个处理组随着时间的延长均明显降低( $P < 0.05$ ),72h 时酶活性最低。

锌离子处理杂交鲟后 MDA 含量变化为同一时间内,24、48、72 h 时 0.1 mg/L 处理组 MDA 含量最高,显著高于其他处

理组 ( $P < 0.05$ ), 其次是对照组, 0.5 mg/L 和 1 mg/L 处理组。组随时间的延长均明显降低 ( $P < 0.05$ ), 72 h MDA 含量最低。

表 3 锌离子对杂交鲟抗氧化酶及丙二醛 (MDA) 的影响

锌离子浓度 (mg/L)	CAT 活性 (U/mL)			SOD 活性 (U/mL)			MDA 含量 (mmol/L)		
	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
0	55 ± 2.1c	58 ± 3.5c	53 ± 3.2b	122 ± 25.2b	105 ± 14.3b	107 ± 26.3a	98 ± 25.4b	89 ± 11.4b	93 ± 13.5a
0.1	172 ± 21.2a	161 ± 2.4a	114 ± 13.1a	172 ± 6.5a	143 ± 11.3a	133 ± 7.6a	152 ± 14.6a	132 ± 14.1a	112 ± 6.3a
0.5	109 ± 7.3b	103 ± 3.2b	56 ± 5.4b	106 ± 7.4b	99 ± 4.3b	54 ± 4.3b	94 ± 5.6b	86 ± 5.3b	33 ± 3.6b
1.	53 ± 4.4c	51 ± 3.9ca	49 ± 5.5c	38 ± 2.6c	29 ± 1.7c	21 ± 1.5c	28 ± 1.9c	26 ± 1.3c	16 ± 1.1c

注: 数据为 9 个平行组的平均值; 同列数据后不同小写字母表示差异达显著水平 ( $P < 0.05$ )。

3 讨论

3.1 锌离子对杂交鲟行为的影响

鱼类终生生活在水中, 用鳃呼吸用鳍游泳。因此, 用呼吸频率和摆尾频率可直接反映出水生动物的行为能力<sup>[11-12]</sup>。本研究发现随着锌离子浓度的增大, 杂交鲟应激反应比较活跃, 杂交鲟的呼吸频率和摆尾频率随之增大, 这是杂交鲟的一种应激反应; 随着时间的延长, 杂交鲟活力受到损害, 呼吸频率和摆尾率均明显降低。这可能是由于时间较长, 重金属富集, 抑制其正常的生理过程, 杂交鲟行为能力开始慢慢减弱。在对泥鳅的重金属毒性研究中也发现了相似的规律<sup>[7]</sup>。泥鳅幼鱼其呼吸强度在重金属刺激后短时间内骤增, 随染毒时间的延长而逐渐减弱。

3.2 锌离子对杂交鲟血细胞的影响

锌对水生动物的免疫功能具有重要的调节作用, 它是动物体内许多酶 (如羧肽酶 A 和碱性磷酸酶) 的组成成分和激活剂<sup>[1]</sup>。白细胞是鱼类体内一种能吞噬异物、具有免疫和自我保护能力的免疫细胞。当环境不良时, 为了抵御外来毒害, 鱼体内白细胞数目会相应增加, 这是鱼类的一种正常防御机制。本研究结果表明, 低浓度的锌离子 (0.1 mg/L) 对杂交鲟血液中白细胞有明显的诱导作用; 高浓度的锌离子则使白细胞数量降低, 说明适当浓度的锌离子有利于免疫功能的增强, 而当浓度超过临界点的时候则会抑制免疫调节, 时间越长, 免疫功能所受到的损伤越大<sup>[13-14]</sup>。红细胞主要是与鱼体内氧的供应有直接关系的物质, 而氧的供应与鱼类的运动能力直接相关<sup>[12]</sup>。同一时间段内, 随着重金属浓度的不断增大, 对泥鳅的毒性也随之加大, 其应激反应增强, 运动能力增强, 需要更多氧气消耗, 从而刺激体内的红细胞数目不断增多<sup>[15]</sup>。

3.3 锌离子对杂交鲟抗氧化酶系统的影响

诱发机体产生过量的活性氧是锌离子对水生动物产生毒性效应的主要原因。而生物体内对应的抗氧化酶系统能消除活性氧损伤, 水生动物抗氧化酶系统与重金属的浓度相关<sup>[16-17]</sup>。CAT、SOD 均为广泛存在于生物体内的抗氧化防御性功能酶。本研究结果表明, 锌离子对杂交鲟血清中 2 种抗氧化酶活性的影响表现出一定剂量效应关系。而同一浓度时, 随着暴露于重金属锌离子的时间延长, 抗氧化酶活性明显降低。说明随着处理时间的延长, 鱼类抗氧化系统破坏, 氧化损害加剧。这种变化规律在鲤鱼<sup>[3]</sup>和牙鲆<sup>[17]</sup>等均有相似的现象。这些鱼均表现出重金属低浓度诱导, 高浓度抑制酶活性的变化规律。国外研究者将之称为毒物兴奋效应, 是一种普遍现象<sup>[18]</sup>。

参考文献:

[1] Halver J E, Hardy R W. Fish nutrition; 227 [M]. New York: Academic Press, 2002; 292 - 294.

[2] 韩军花, 杨月欣, 门建华, 等. 锌对红细胞膜转运功能影响的研究 [J]. 营养学报, 2001, 23 (4): 320 - 323.

[3] 高晓莉, 罗胡英, 赵彦珍, 等. 铜、锌对鲤鱼抗氧化酶影响的研究 [J]. 淡水渔业, 2004, 34 (4): 22 - 23.

[4] 王银秋, 张迎梅, 赵东芹. 重金属镉、铅、锌对鲫鱼和泥鳅的毒性 [J]. 甘肃科学学报, 2003, 15 (1): 35 - 38.

[5] Lopes P A, Pinheiro T, Santos M C, et al. Response of antioxidant enzymes in freshwater fish populations (*Leuciscus alburnoides complex*) to inorganic pollutants exposure [J]. Science of the Total Environment, 2001, 280 (1/3): 153 - 163.

[6] 周新文, 朱国念, 孙锦荷. Cu、Zn、Pb、Cd 及混合重金属离子对鲫鱼 DMA 甲基化水平的影响 [J]. 中国环境科学, 2002, 21 (6): 549 - 552.

[7] 贾秀英. 四种重金属对泥鳅幼鱼呼吸强度的影响 [J]. 浙江大学学报: 农业与生命科学版, 2001, 27 (5): 87 - 89.

[8] 王吉桥, 姜志强, 胡红霞. 主要养殖鲟鱼的生物学特性 [J]. 水产科学, 1998, 1 (6): 34 - 38.

[9] 孙大江, 曲秋芝, 张颖, 等. 中国的鲟鱼养殖 [J]. 水产学杂志, 2011, 24 (4): 67 - 70.

[10] 曹德福, 田丽娇. 杂交鲟人工繁殖及苗种培育技术 [J]. 水利渔业, 2000, 20 (1): 7.

[11] 李丹, 林小涛, 李想, 等. 水流对杂交鲟幼鱼游泳行为的影响 [J]. 淡水渔业, 2008, 38 (6): 46 - 51.

[12] 宋波澜, 林小涛, 王伟军, 等. 不同流速下红鳍银鲫趋流行为与耗氧率的变化 [J]. 动物学报, 2008, 54 (4): 686 - 694.

[13] Jing G, Li Y, Xie L P, et al. Metal accumulation and enzyme activities in gills and digestive gland of pearl oyster (*Pinctada fucata*) exposed to copper [J]. Comparative Biochemistry and Physiology, 2006, 144 (2): 184 - 190.

[14] Lee M H, Shiau S Y. Dietary copper requirement of juvenile grass shrimp, *Penaues monodon*, and effects on non-specific immune responses [J]. Fish & Shellfish Immunology, 2002, 13 (4): 259 - 270.

[15] 南旭阳. 铜离子对鲫鱼红细胞、白细胞和血红蛋白量的影响 [J]. 江西科学, 2002, 20 (1): 38 - 41.

[16] 高春生, 王春秀, 张书松. 水体铜对黄河鲤肝脏抗氧化酶活性和总抗氧化能力的影响 [J]. 农业环境科学学报, 2008, 27 (3): 1157 - 1162.

[17] 王凡, 赵元凤, 吕景才, 等. 铜对牙鲆 CAT、SOD 和 GSH - PX 活性的影响 [J]. 华中农业大学学报, 2007, 26 (6): 836 - 838.

[18] Beaumont A R, Newman P B. Low levels of tributyltin reduce growth of marine microalgae [J]. Marine Pollution Bulletin, 1986, 17 (10): 457 - 461.