

刘思思,高旋旋,胡竹青,等. 镉诱导锦鲤肾脏氧化性 DNA 损伤及谷胱甘肽抗氧化系统改变[J]. 江苏农业科学,2016,44(2):272-274.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.02.079

镉诱导锦鲤肾脏氧化性 DNA 损伤 及谷胱甘肽抗氧化系统改变

刘思思¹, 高旋旋², 胡竹青², 程 超¹, 渠漫漫², 孙 晴², 刘缠民¹, 郑桂红¹

(1. 江苏师范大学, 江苏徐州 221116; 2. 江苏师范大学科技学院, 江苏徐州 221116)

摘要:研究镉(Cd)暴露对锦鲤(*Carassius auratus* L.)肾脏氧化应激、氧化性 DNA 损伤、谷胱甘肽抗氧化系统的影响。试验采用静水生物养殖法,将 40 尾锦鲤随机分为 4 组,每组 10 尾,分别暴露于 0、5、10、20 mg/L 的 CdCl₂ 水溶液中,持续 96 h。观察锦鲤的行为变化,测定肾脏丙二醛(MDA)含量、氧化性 DNA 指标 8-羟基鸟嘌呤(8-OHdG)水平、还原型谷胱甘肽(GSH)水平,并检测谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、谷胱甘肽-S-转移酶(GST)、谷胱甘肽还原酶(GR)、谷氨酸半胱氨酸连接酶(GCL)的活性。结果表明,Cd 暴露使锦鲤发生明显改变,MDA、8-OHdG、GSH 水平均升高,并改变了谷胱甘肽抗氧化酶系统。

关键词:锦鲤;镉;肾脏;DNA 损伤;氧化应激

中图分类号: S941.91

文献标志码: A

文章编号: 1002-1302(2016)02-0272-02

镉(Cd)是一种毒性很大的重金属,主要作为锌矿、硫化物矿、铅矿、铜矿等的副产物,在矿的开采、冶炼、精炼过程中进入环境,并对环境造成危害。镉一旦进入水中,会对水体生态系统造成严重污染,危害水生生物的生命^[1-2]。

锦鲤(*Carassius auratus* L.)是鲤科(Cyprinidae)鲤属(*Carassius*)的一种观赏鱼,颜色艳丽,形态优美,同时也是水生环境监测的一种试验鱼种类^[3]。氧化应激是重金属对鱼类造成损伤的常见方式,很多重金属都会诱导氧化应激损伤^[2-3]。谷胱甘肽抗氧化酶系统由还原型谷胱甘肽(GSH)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、谷胱甘肽-S-转移酶(GST)、谷胱甘肽还原酶(GR)、谷氨酸半胱氨酸连接酶(GCL)组成,在动物机体抗氧化损伤中承担重要作用^[4]。研究表明,镉能够引起淡水鲌鱼(*Channa punctatus*)^[2]、广东鲂(*Megalobrama terminalis*)^[5]、草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)^[6]等鱼的氧化损伤。本研究以锦鲤为试验对象,探讨镉暴露对锦鲤肾脏 DNA 损伤、谷胱甘肽抗氧化系统的影响,以期对环境监测及镉害防治提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试红白锦鲤购自徐州市佳顺锦鲤养殖基地,体长 5~7 cm、质量 4~7 g/尾。试验采用静水生物养殖法。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 6 mg/L,pH 值 6.8,水温(23±1)℃。先将锦鲤置于室内水

族箱进行为期 7 d 的预试验。锦鲤暂养期间活动正常、无病,死亡率低于 5%。于试验前 24 h 停止饲喂,选择品相较好、健康的红锦鲤 40 尾,随机分为 4 组,3 个处理组的 CdCl₂ 浓度分别为 5、10、20 mg/L。试验期间不饲喂、不换水,每天观察其行为。于 96 h 后处死,取其肾脏,冰浴生理盐水匀浆,以 3 000 r/min 冷冻离心 10 min 制备组织上清液,测定其生化指标。

1.2 鱼行为观察

按照 Sveciūcius 的方法^[7]将鱼的行为活性分为 5 级(0、1、2、3、4 级)。每天观察记录鱼的行为并对其分级。

1.3 氧化应激及谷胱甘肽抗氧化系统指标测定

丙二醛(MDA)水平、还原型谷胱甘肽(GSH)水平、蛋白含量、谷胱甘肽过氧化物酶(GPX)活性、谷胱甘肽-S-转移酶(GST)活性、谷胱甘肽还原酶(GR)活性均采用试剂盒(南京市建成生物工程研究所)进行测定,谷氨酰半胱氨酸连接酶(GCL)采用苏州市科名生化指标试剂盒测定,所用仪器为 UV-722 型紫外可见分光光度计。

1.4 DNA 损伤测定

根据已有研究的方法^[8],采用商品试剂盒(Wako Pure Chemical Industries, Ltd.),按说明书进行操作。采用带有检测器的高效液相色谱(Agilent Technologies, USA)进行测定,8-OHdG 的表示方法为 8-OHdG/10⁻⁵ deoxyguanosine。

2 结果与分析

2.1 镉对鱼行为的影响

观察鱼的行为并测定其行为活性。由图 1 可知,不同浓度镉暴露对鱼的行为具有不同影响。与对照组相比,中低浓度镉暴露抑制鱼的行为活性,而高浓度镉暴露则呈 1 d 时抑制、之后强烈激发的现象。以不同时间比较,各处理组均呈 1 d 行为活性不高、2~3 d 活性增强、4 d 活性下降的趋势,但仍高于对照组。

收稿日期:2015-06-08

基金项目:江苏省自然科学基金(编号:BK20141147);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:刘思思(1988—),女,江苏徐州人,硕士研究生,主要从事生态学研究。E-mail:liusisi644@163.com。

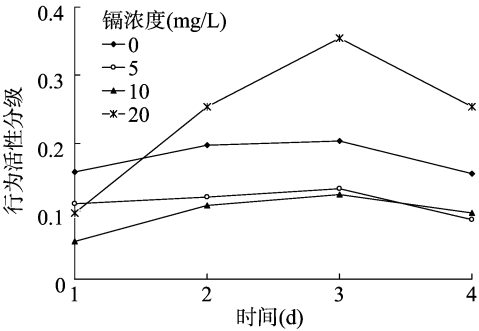


图1 不同浓度镉暴露对锦鲤行为活性的影响

2.2 镉对鱼肾脏的氧化应激及 DNA 损伤

MDA 含量、8-OHdG 水平常作为氧化应激的指标,由测定结果(表 1)可知,镉暴露导致锦鲤肾脏 MDA 含量、8-OHdG 水平明显升高。与对照组相比,5、10、20 mg/L 镉暴露下 MDA 含量分别增大 15.2%、169.4%、398.0%,8-OHdG 水平分别增大 16.1%、32.3%、64.5%。可见,镉暴露引起了锦鲤肾脏氧化应激损伤及 DNA 损伤。

表 2 镉暴露对锦鲤肾脏谷胱甘肽抗氧化系统的影响

处理浓度 (mg/L)	GSH 含量 (nmol/mg)	GPX 活性 (U/mg)	GST 活性 (U/mg)	GR 活性 (U/mg)	GCL 活性 (U/mg)
0	4.85 ± 0.04	42.27 ± 1.84	24.31 ± 1.25	15.48 ± 1.03	20.63 ± 1.52
5	5.27 ± 0.07 *	46.65 ± 2.07 *	28.28 ± 1.62 *	17.96 ± 1.12 *	24.36 ± 1.22 *
10	5.83 ± 0.08 *	48.92 ± 2.64 *	32.35 ± 2.19 *	20.17 ± 1.36 *	26.45 ± 2.14 *
20	6.16 ± 0.05 *	52.48 ± 3.09 *	38.36 ± 2.11 *	22.65 ± 2.03 *	27.37 ± 1.85 *

3 结论与讨论

镉会对水生生态系统造成很大影响。本研究表明,不同体积分数的镉暴露对锦鲤行为活性具有不同影响,呈低抑制、高激发的现象。在 5、10 mg/L 的镉暴露浓度下,行为活性均明显低于对照;20 mg/L 的镉暴露浓度则明显激发行为活性,表明高浓度镉暴露对锦鲤具有明显刺激作用。行为活性随时间的推移呈早期激发、后期抑制的趋势,表明锦鲤刚接触镉刺激时活性变强,疲惫后活动行为变慢。

脂质过氧化产物指机体中脂质被氧化后的产物,是反映氧化应激的重要指标。研究表明,镉能够强烈抑制线粒体电子传递链,导致电子无法正常传递至接受体,而是传递至氧原子,从而产生大量氧自由基,引起机体氧化损伤^[2-9]。氧自由基也可通过多种途径造成 DNA 损伤,如引起单链 DNA 断裂、DNA 与蛋白质交联、构成 DNA 的基础物质发生改变。8-OHdG 是氧自由基诱导鸟嘌呤 C-8 发生羟基改变的产物,因此 8-OHdG 常作为氧化性 DNA 损伤的标志^[4]。本试验中,脂质过氧化产物 MDA 含量、8-OHdG 水平均明显升高,表明镉暴露引起了锦鲤肾脏氧化损伤。

谷胱甘肽是一种非酶抗氧化物质,在调节脂质过氧化产物的产生、减少氧化反应发生中起重要作用。已有研究表明,镉暴露能够诱导 GSH 含量的升高,可能是由于对抗其引起的氧化应激损伤^[10]。本试验发现 96 h 镉暴露同样引起了 GSH 含量的升高。GR、GCL 是维持 GSH 含量的重要酶,GR 能够催化氧化型谷胱甘肽转化为 GSH,GCL 是 GSH 生物合成的限

表 1 镉暴露对锦鲤肾脏 MDA 含量及 8-OHdG 水平的影响

处理浓度 (mg/L)	MDA 含量 (nmol/mg)	8-OHdG 水平 (8-OHdG/10 ⁻⁵ deoxyguanosine)
0	5.52 ± 0.11	0.31 ± 0.03
5	6.36 ± 0.09 *	0.36 ± 0.08 *
10	14.87 ± 0.11 *	0.41 ± 0.06 *
20	27.49 ± 0.25 *	0.51 ± 0.09 *

注:“*”表示与对照组相比差异显著(P<0.05)。下表同。

2.3 镉对锦鲤肾脏谷胱甘肽抗氧化系统的影响

由锦鲤肾脏谷胱甘肽抗氧化系统指标的测定结果(表 2)可知,96 h 镉暴露使系统活性明显升高。与对照组相比,5、10、20 mg/L 镉暴露下 GSH 含量分别增加 8.7%、20.2%、27.0%,GPX 活性分别提高 10.4%、15.7%、24.2%,GST 活性分别提高 16.3%、33.1%、57.8%,GR 活性分别提高 16.0%、30.3%、46.3%,GCL 活性分别提高 18.1%、28.2%、32.7%。可见,镉暴露导致锦鲤肾脏谷胱甘肽抗氧化系统发生改变。

速酶。GST 是谷胱甘肽结合反应的关键酶,催化该反应的起始步骤。GPx 是机体内广泛存在的一种重要的过氧化物分解酶。GST、GPx、GR、GCL、GSH 在机体抗氧化中发挥重要作用。镉暴露引起 GSH 水平升高,以及 GR、GCL、GST、GPX 活性上升,提示机体在尽力调动谷胱甘肽抗氧化系统以对抗镉引起的氧化损伤。本试验结果为研究镉引起动物组织损伤的机制提供依据。

参考文献:

[1] 陈再忠,沈 芾,孔令富,等. 重金属镉在锦鲤各组织中的富集[J]. 江苏农业科学,2011,39(6):387-389.

[2] Dabas A, Nagpure N S, Kumar R, et al. Assessment of tissue-specific effect of cadmium on antioxidant defense system and lipid peroxidation in freshwater murrel, *Channa punctatus* [J]. Fish Physiology and Biochemistry, 2012, 38(2):469-482.

[3] 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.

[4] Liu C M, Ma J Q, Sun Y Z. Protective role of puerarin on lead-induced alterations of the hepatic glutathione antioxidant system and hyperlipidemia in rats[J]. Food and Chemical Toxicology, 2011, 49(12):3119-3127.

[5] 曾艳艺,赖子尼,杨婉玲,等. 广东鲂幼鱼对铜、镉胁迫的氧化应激响应及其指示意义[J]. 生态环境学报,2014,23(12):1972-1979.

[6] 田 鹏. 水体中镉暴露对草鱼的氧化胁迫研究[D]. 重庆:西南大学,2013.

麻艳群,黄凯,于丹,等. 饲料磷脂水平对苏氏圆腹鲢血清生化指标和肌肉磷脂含量的影响[J]. 江苏农业科学,2016,44(2):274-276.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.02.080

饲料磷脂水平对苏氏圆腹鲢血清生化指标和肌肉磷脂含量的影响

麻艳群,黄凯,于丹,陈涛

(广西大学动物科技学院/广西高校水生生物健康养殖与营养调控重点实验室,广西南宁 530005)

摘要:研究饲料磷脂水平对苏氏圆腹鲢血清生化、肌肉磷脂等生理机制的影响。将 900 尾苏氏圆腹鲢(*Pangasius sutchi*) [初始体质量约(1.45±0.08)g/尾]随机分成 5 组,分别投喂 5 组饲料,各组磷脂水平分别为 0% (PL0 组)、1% (PL1 组)、2% (PL2 组)、3% (PL3 组)、4% (PL4 组)。结果表明:(1)各组间血清磷脂含量差异不明显;(2)PL4 组的胆固醇含量最低,为(5.53±0.23)mmol/L;(3)苏氏圆腹鲢肌肉磷脂含量随饲料磷脂水平的升高而升高。可以看出:饲料中添加磷脂能有效阻止胆固醇在血管内壁沉积,促进脂类的代谢;同时相应增加苏氏圆腹鲢幼鱼肌肉中贮存的磷脂量,从而满足鱼体生长需要、提高苏氏圆腹鲢肉的品质风味。

关键词:磷脂;苏氏圆腹鲢;血清生化指标;肌肉磷脂

中图分类号: S963.16+1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2016)02-0274-03

苏氏圆腹鲢(*Pangasius sutchi*)是我国新兴的一种名贵淡水养殖品种,属鲶形目鲶科圆腹鲢属,别称巴沙鱼、虎头鲨、暹罗河鲶或八珍鱼,原产于马来西亚、泰国等地^[1-2],近几年来我国开始引种驯养。苏氏圆腹鲢在生长过程中,腹腔内会逐渐积累出 3 块较大的油脂肪,可达体质量的 5%~8%,这一特征在其他鱼类中极为罕见。苏氏圆腹鲢在越南等地因此被称为卡巴沙——三块脂肪鱼,该鱼肉质细嫩,无细小骨刺,口感鲜美,同时在其类似海鲨的软骨组织中含有营养及药用价值颇高的硫酸软骨素,被誉为饮食中的“软黄金”,具有广阔的市场前景^[3]。

国外对苏氏圆腹鲢的研究报道不多,关于苏氏圆腹鲢营养需求方面的研究报道较少。Zainuddin 用 4 种含磷水平(0.151%、0.658%、1.162%、1.664%)的等能、等氮的日粮饲喂初始体质量为(0.600±0.014)g 的苏氏圆腹鲢幼鱼 56 d,发现鱼体、鱼骨中的磷、钙、镁浓度随日粮中磷水平的升高(0.151%~1.162%)而升高^[4]。在我国,由于苏氏圆腹鲢引进的时间不长,因此目前国内对苏氏圆腹鲢的研究多数集

中在人工繁殖试验^[5-6],池塘、网箱或水泥池养殖模式^[7-10],以及工厂化养殖技术^[11]的初探上,对营养需求、机体生理机能方面的研究很少。

磷脂是鱼类尤其是仔稚鱼生长的重要营养因子;另一方面,磷脂也是重要的香味前体物质,肌肉中磷脂含量的多少会直接影响肉的品质风味。

本试验用不同水平磷脂饲料饲喂苏氏圆腹鲢,研究各组血清生化指标、血清磷脂含量和肌肉磷脂含量的变化规律,以期通过营养调控方式,为今后在苏氏圆腹鲢人工饲料中添加磷脂、推广养殖苏氏圆腹鲢提供必要的理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 试验用鱼 苏氏圆腹鲢(*Pangasius sutchi*)由广西水产引育种中心提供。驯养 7 d 后选择健康、状态佳的鱼苗 900 尾,初始体质量约(1.45±0.08)g/尾,随机分成 5 组,每组设 3 个重复,每个重复 60 尾,将每个重复的鱼放养于 1 个水泥池(规格为 1.52 m×1.00 m×1.00 m)中。

1.1.2 饲料 在基础饲料中添加不同比例的大豆磷脂(磷脂含量 75%),配制成 5 组试验饲料,各组饲料组成、营养成分分别见表 1、表 2,各组磷脂水平分别为 0% (PL0 组)、1% (PL1 组)、2% (PL2 组)、3% (PL3 组)、4% (PL4 组)。

收稿日期:2015-01-13

基金项目:广西自然科学基金(编号:2012GXNSFBA053053);广西大学科研基金(编号:XBZ130020)。

作者简介:麻艳群(1980—),女,广西南宁人,博士,副教授,主要从事水产动物营养与生理的研究。E-mail:mayanqun@163.com。

[7] Svecevičius G. Behavioral responses of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* to sublethal toxicity of a model mixture of heavy metals[J]. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 2005, 74 (5): 845-852.

[8] Liu C M, Zheng G H, Ming Q L, et al. Sesamin protects mouse liver against nickel-induced oxidative DNA damage and apoptosis by the PI3K-Akt pathway[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2013, 61(5): 1146-1154.

[9] Stohs S J, Bagchi D, Hassoun E, et al. Oxidative mechanisms in the toxicity of chromium and cadmium ions[J]. Journal of Environmental Pathology Toxicology and Oncology, 2000, 19(3): 201-213.

[10] Schlenk D, Rice C D. Effect of zinc and cadmium treatment on hydrogen peroxide-induced mortality and expression of glutathione and metallothionein in a teleost hepatoma cell line[J]. Aquatic Toxicology, 1998, 43(2/3): 121-129.