

任洪涛,林霖.不同浓度  $\text{Cd}^{2+}$  对草鱼组织器官及抗氧化酶 SOD 活性的影响[J].江苏农业科学,2016,44(11):261-263.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.11.078

# 不同浓度 $\text{Cd}^{2+}$ 对草鱼组织器官及抗氧化酶 SOD 活性的影响

任洪涛,林霖

(河南科技大学动物科技学院,河南洛阳 471003)

**摘要:**以草鱼为试验对象,采用静水测试法,研究养殖水体中不同浓度  $\text{Cd}^{2+}$  对草鱼组织器官及肝脏中超氧化物歧化酶(SOD)活性的影响,试图探讨重金属的毒性积累和毒性机制。采用不同浓度(1.98、2.96、4.44、6.67、10.00 mg/L)的  $\text{Cd}^{2+}$  溶液浸浴法处理草鱼鱼种,检测组织抗氧化酶 SOD 的活性变化及对组织器官的影响。结果表明,镉对草鱼种 24、48、96 h 的半致死浓度分别为 1.959、1.830、1.245、1.011 mg/L;安全浓度为 0.479 0、0.101 1 mg/L。 $\text{Cd}^{2+}$  对草鱼的毒性效应随着时间的延长而增强。 $\text{Cd}^{2+}$  对草鱼鱼种肝脏的 SOD 活性有明显的影 响( $P < 0.5$ )。与对照组相比,经高浓度和低浓度处理后 24、96 h 显著下降( $P < 0.5$ );每组 24、96 h 的 SOD 活性无显著差异。得出结论, $\text{Cd}^{2+}$  对草鱼 SOD 活性的影响随时间延长而呈下降的趋势。抗氧化酶 SOD、组织器官的变化这 2 项指标都能够敏感地指示  $\text{Cd}^{2+}$  的毒性水平,是较理想的生态毒理学指标。

**关键词:**草鱼; $\text{Cd}^{2+}$ ;半致死浓度;安全浓度;组织器官;抗氧化物歧化酶(SOD)

**中图分类号:**S943.112.91 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2016)11-0261-03

镉是一种灰色而有光泽的重金属,微量且广泛地存在于环境中<sup>[1]</sup>。金属镉毒性很低,但其化合物毒性很大。镉在体内积蓄,潜伏期可达 10~30 年之久,为已知最易在体内积聚的毒物之一<sup>[2]</sup>。随着工业生产的发展、海上石油和运输业的发展以及废水的排出,镉污染在水中的污染越来越严重,已转变为潜在性的社会危害。由于现代工农业的发展,大量的重金属污染物通过多种途径释放并进入水体,水质污染日益严重。一些重金属离子浓度超标对鱼类有毒害作用,常常会扰乱鱼类的生命活动,引起鱼类的中毒和死亡,且已证实水中的重金属污染物可通过食物链传递进入人体并对人体造成严重的危害。

国内外水产科研者对重金属镉对鱼类的研究取得了一些成果。然而,由于重金属在水生生态系统中呈现较为复杂的形态、相对较高的活性、对鱼类较强的毒性和鱼类承受重金属毒害的机理复杂性,并且有关重金属在水生生态系统中的形态、分布、转化和对鱼类的毒害机理尚未弄清楚,因此为进一步推动重金属污染对鱼类毒性的研究与防治,有必要对其进行进一步的研究。

本研究通过养殖水体中不同浓度  $\text{Cd}^{2+}$  对草鱼脑和肝脏组织及抗氧化酶超氧化物歧化酶(SOD)活性的影响试验,为重金属的毒性积累和毒性机制提供参考依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 试验动物

采用草鱼鱼种为试验对象,采自河南省洛阳市郊鱼苗场。试验鱼健壮,体长范围为(10.0±2.0) cm,体质量范围为(10.0±3.0) g。鱼种自养殖场运回来后驯养 1 周后再进行试验。

### 1.2 试验设计与方法

试验用水为自来水,水温 17~18 ℃,pH 值为 7.9,溶解空气 13.6272 cm<sup>3</sup>/L,溶解氧 4.6089 cm<sup>3</sup>/L,水硬度 33.14。试验在 40 cm×25 cm×25 cm 水族箱中进行。水族箱中加入 15 L/箱毒液,将配制好的毒液于空气中暴露 48 h,后放入受试鱼 10 尾。

1.2.1 急性毒性试验 采用静水法生物测试<sup>[3]</sup>。试验周期为 96 h,为防止粪便对水质造成污染,试验期间不进行喂食。每天 24 h 连续充气。每组 10 尾鱼,共 6 组;按等比级数设 5 个浓度梯度,并设 1 个对照组,同时设有 3 个重复组,共 160 尾鱼。用尼龙小孔抄网从预先筛选出来的试验对象中随机选取 10 尾鱼放入每个试验容器中,所有鱼在 20 min 内转移完毕。观察记录,随时捞出死亡个体,并记录各组鱼苗的 24、48、72、96 h 的死亡数。死亡的标准是鱼腹部向上,鳃盖停止运动。采用直线内插法,以浓度的常用对数为横坐标,死亡率的概率单位为纵坐标,求出各自的半数致死浓度(LC<sub>50</sub>),并根据公式  $SC_I = (48h LC_{50} \times 0.3) / (24h LC_{50} / 48h LC_{50})^2$  和  $SC_{II} = 96h LC_{50} \times 0.1$  求安全浓度(SC)。

1.2.2 样品采集 及时捞出各浓度下死亡的草鱼以及对照组的草鱼,取出肝脏和脑组织,将一部分组织放入 10% 甲醛溶液中固定,用来制作组织切片;另一部分肝脏装入 1.5 mL

收稿日期:2015-09-25

基金项目:河南科技大学博士科研启动基金(编号:09001760);河南科技大学科学研究基金(编号:2014QN059)。

作者简介:任洪涛(1977—),男,河南永城人,博士,讲师,主要研究方向为水产动物生态与营养。E-mail:hthn2012@163.com。

EP管中并做好标记,置于-20℃冰箱中保存,最后采用试剂盒(南京建成生物工程研究所生产)的方法测定肝脏组织中超氧化物歧化酶(SOD)的活性。

### 1.3 数据处理

试验测得的所有数据采用 Excel 进行整理;运用 SPSS 软件中的 one-way ANOVA 检验进行统计分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 Cd<sup>2+</sup>对草鱼的急性毒性试验

草鱼中毒后的症状为鱼失去平衡、左右摆动、失去游动能力。死后鱼体的体表黏膜部分缺失,并出现大量的絮状黏膜。由表1、表2可知,Cd<sup>2+</sup>对草鱼鱼种在24、48、96 h的半致死浓度分别为1.959、1.830、1.245、1.011 mg/L。

表1 Cd<sup>2+</sup>对草鱼的急性毒性

| Cd <sup>2+</sup> 浓度<br>(mg/L) | 不同试验时间下的平均死亡率(%) |      |      |      |
|-------------------------------|------------------|------|------|------|
|                               | 24 h             | 48 h | 72 h | 96 h |
| 0.00                          | 0                | 0    | 0    | 0    |
| 1.98                          | 0                | 0    | 20   | 40   |
| 2.96                          | 10               | 20   | 30   | 50   |
| 4.44                          | 30               | 40   | 60   | 70   |
| 6.67                          | 30               | 50   | 80   | 90   |
| 10.00                         | 70               | 80   | 100  | 100  |

表2 Cd<sup>2+</sup>对草鱼的急性毒性特征的分析

| 时间<br>(h) | 回归方程               | n  | r     | LC <sub>50</sub><br>(mg/L) | SC <sub>I</sub><br>(mg/L) | SC <sub>II</sub><br>(mg/L) |
|-----------|--------------------|----|-------|----------------------------|---------------------------|----------------------------|
| 24 h      | y = 2.909x - 0.700 | 10 | 0.873 | 1.959                      |                           |                            |
| 48 h      | y = 3.086x - 0.648 | 10 | 0.863 | 1.830                      | 0.479                     | 0.101                      |
| 72 h      | y = 2.276x + 2.167 | 10 | 0.936 | 1.245                      |                           |                            |
| 96 h      | y = 1.950x + 3.028 | 10 | 0.935 | 1.011                      |                           |                            |

### 2.2 Cd<sup>2+</sup>对草鱼的组织学影响

重金属对肝脏细胞有较大的毒性。肝脏是重金属中毒的主要靶器官,染毒后出现严重的细胞坏死现象。空白组肝脏细胞完整,可以清晰地分辨细胞轮廓。染毒组织肝脏细胞结构多变为不完整,残留的核物质散乱分布,肝细胞凝固性坏死,正常的壁状结构消失。

由图1可知,与对照组A相比,A-1肝脏细胞膜的界限已经不是很清晰,细胞核颜色加深;A-2与A-1相比,细胞膜几乎消失,界限很不明显且细胞核颜色进一步加深。A-3与对照组相比,细胞间间隙大,脱水严重,核物质散乱分布;A-4与A-3对比,已经分辨不出清晰地轮廓,界限消失,细胞核颜色加深。

由图2可知,与对照组B相比,B-1的变化不是特别明显,只是细胞的轮廓变得模糊;B-2与B-1相比,细胞结构不完整,核物质散乱分布。B-3与对照组相比,细胞界限不明显,轮廓模糊;B-4与B-3相比,细胞核颜色加深,核物质散乱排布,脑细胞结构已不完整。

### 2.3 Cd<sup>2+</sup>对超氧化物歧化酶(SOD)活性的影响

由图3可以看出,草鱼在低浓度溶液(1.98 mg/L)处理下肝脏组织中SOD的活性要比在高浓度溶液(6.67 mg/L)的要高(P<0.05)。且与对照组相比,经高浓度和低浓度处理后的24、96 h分别呈明显的下降趋势(P<0.05);每组的24、

96 h的SOD活性无显著差异。由此得出,Cd<sup>2+</sup>对草鱼的SOD活性的影响随时间的延长而呈下降趋势。

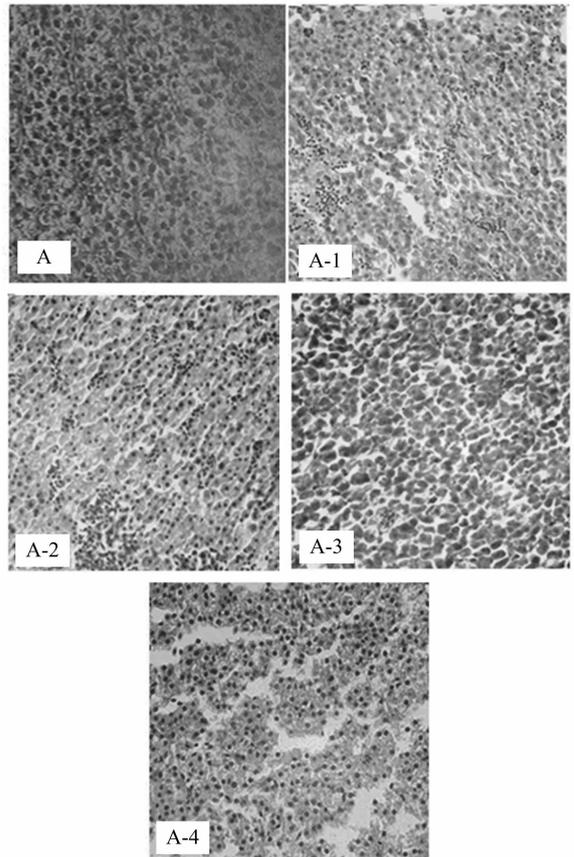
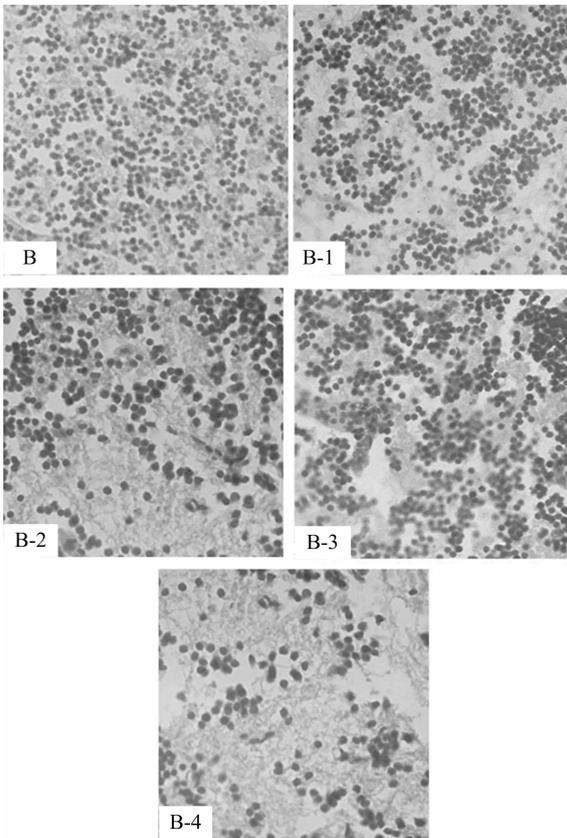


图1 经不同浓度 Cd<sup>2+</sup>处理肝脏的变化  
A—对照组肝脏; A-1—Cd<sup>2+</sup> 1.98 mg/L 处理组 24 h 的肝脏;  
A-2—Cd<sup>2+</sup> 1.98 mg/L 处理组 48 h 的肝脏;  
A-3—Cd<sup>2+</sup> 10.0 mg/L 处理组 24 h 的肝脏; A-4—Cd<sup>2+</sup>  
10.0 mg/L 处理组 48 h 的肝

## 3 讨论

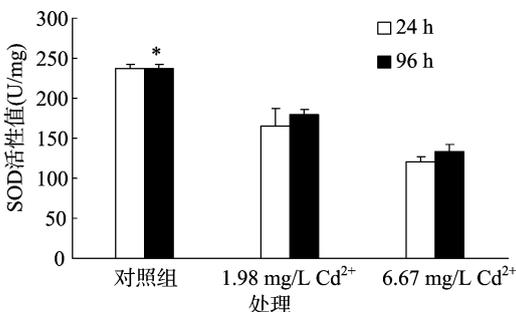
### 3.1 Cd<sup>2+</sup>急性毒性

本研究结果表明,草鱼在不同质量浓度、不同暴露时间的死亡率和死亡概率是不同的,Cd<sup>2+</sup>浓度与草鱼的死亡率之间呈现明显的剂量效应关系,随着 Cd<sup>2+</sup>浓度升高,草鱼的死亡率也升高。且随着染毒时间的延长,草鱼对 Cd<sup>2+</sup>的敏感性逐渐增强,即 24 h LC<sub>50</sub> > 48 h LC<sub>50</sub> > 72 h LC<sub>50</sub> > 96 h LC<sub>50</sub>。镉对生物的有害影响首先是使一定的活性传递机制受阻,肾脏受损伤,酶受危害以及内分泌系统受影响,使生物机能失调<sup>[4]</sup>。在本试验中,进行亚急性试验后,草鱼的增质量率、特定生长率和成活率随着镉浓度的升高而逐渐降低,也就是说,水体中镉含量越多,草鱼的生长性能越差。原因可能与体内的金属硫蛋白(MT)有关,因为鱼类体内富含半胱氨酸,易于和重金属结合<sup>[5]</sup>,当鱼体内积累的镉达到一定程度之后,体内合成的金属硫蛋白不能满足与进入细胞的镉结合的需要,多余的镉就会与体内的其他生物分子结合<sup>[6]</sup>,造成镉中毒。由此看出,当水体中的镉浓度超过一定限度时,水体中的镉浓度越高,对鱼类的生长越不利,为了养殖鱼的正常生长,水体中的镉浓度要控制在安全浓度以内,根据本研究结果,养殖草鱼的水体中镉浓度应在安全浓度 0.479 mg/L 以下,才能保证



B—对照组的脑细胞；B-1— $\text{Cd}^{2+}$  1.98 mg/L 处理组 24 h 的脑细胞；B-2— $\text{Cd}^{2+}$  1.98 mg/L 处理组 48 h 的脑细胞；B-3— $\text{Cd}^{2+}$  10.0 mg/L 处理组 24 h 的脑细胞；B-4— $\text{Cd}^{2+}$  10.0 mg/L 处理组 48 h 的脑细胞

图2 经不同浓度  $\text{Cd}^{2+}$  处理脑的变化



\* 表示不同时间段差异显著( $P < 0.05$ )

图3  $\text{Cd}^{2+}$  作用下的 SOD 活性值

草鱼的健康生长。

### 3.2 $\text{Cd}^{2+}$ 对草鱼组织的影响

重金属会引起鱼类的肝脏、鳃、脾脏等组织病理变化,包括肝脏坏死、鳃上皮增生、融合、毛细血管扩张、水肿等<sup>[7-8]</sup>。重金属中毒后,肝细胞出现明显的脂滴,肝细胞团状或生长过度,肝实质变性,肝糖原缺乏,窦状隙和血管阻塞,胆管上皮变性或坏死。重金属对肠的损伤则表现为充血、绒毛变性、黏液性杯状细胞增多、黏液下层液泡状或坏死、微管结构变性或坏死等。重金属对肾上腺、甲状腺、胃、心脏、脑、脊髓、皮肤、侧线器官、嗅觉器官、眼等产生伤害。重金属还可以诱导鱼类组织器官(如肝脏、脾、肠等)细胞凋亡<sup>[9]</sup>。

### 3.3 $\text{Cd}^{2+}$ 对草鱼 SOD 活性的影响

本试验结果表明,低浓度  $\text{Cd}^{2+}$  短时间内处理草鱼,可使草鱼 SOD 活力上升,高浓度长时间处理草鱼,可使草鱼 SOD 活力下降,这与国内外的许多研究结果<sup>[10]</sup>一致。李大辉等研究发现  $\text{Cd}^{2+}$  处理引起 SOD、过氧化氢酶(POD)活性变化,反映了重金属胁迫使活性氧自由基增多,膜脂过氧化加剧;在低浓度  $\text{Cd}^{2+}$  处理时,植物体内 SOD、POD 受到活性氧自由基的诱导,活性上升,参与清除自由基;在长时间高浓度作用后,酶系统就会被重金属离子破坏而使 SOD 和 POD 活性下降,植株对自由基和过氧化物的防御能力减弱<sup>[11]</sup>。杨居荣等认为当 SOD 活性下降时,多烯不饱和脂肪酸就可能过多地被过氧化,致使一部分类囊体膜被破坏;重金属胁迫作用使 SOD、POD 活性下降,植物对自由基和过氧化物的防御能力降低,从而受到毒害,这也是重金属的毒性机制<sup>[12]</sup>。在哺乳动物方面的研究也表明, $\text{Cd}^{2+}$  可抑制 SOD 的活性。覃信国等研究发现,染  $\text{Cd}^{2+}$  的大鼠可造成组织 SOD 活力下降和过氧化脂质代谢产物丙二醛(MDA)含量增加<sup>[13]</sup>。常青等同样也发现,染  $\text{Cd}^{2+}$  的大鼠心肌 SOD 活性下降,导致了氧自由基在体内的积累,从而损伤了生物膜,引起了过氧化脂质(LPO)水平的升高<sup>[10]</sup>。

### 参考文献:

- [1] 陈京京,丁晓静,蔡英,等. 氰化物原子荧光法与石墨炉原子吸收法测定水中镉的比较研究[J]. 环境保护与循环经济,2011,31(8):66-68.
- [2] 颜莎. 水中镉的胶束强化超滤净化及快速检测方法研究[D]. 长沙:中南大学,2010.
- [3] 贾秀英,陈志伟. 镉对鲫鱼组织转氨酶和过氧化氢酶活性的影响[J]. 环境污染与防治,1997,19(6):4-5.
- [4] 孟紫强. 环境毒理学[M]. 北京:中国环境科学出版社,2000:87-98.
- [5] 黄敏毅,张育辉,段仁燕. 镉对中国林蛙蝌蚪肝内 FOS 蛋白和金属硫蛋白的影响[J]. 水生态学杂志,2009,2(3):69-72.
- [6] 梁涛,陶澍,林健枝. 鱼体(去鳃)和鱼鳃对不同形态 Cu 的积累特征[J]. 生态学报,1999,19(5):763-766.
- [7] 王俊,张义生. 化学污染物与生态效应[M]. 北京:中国环境科学出版社,1993:156-225.
- [8] 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.
- [9] 张毓琪,陈叙龙. 环境生物毒理学[M]. 天津:天津大学出版社,1993:65-78.
- [10] 常青,孟扬,王瑞绵,等. 镉对大鼠心肌 SOD 活性、LPO 水平及心肌细胞超微结构的作用[J]. 湖北医科大学学报,1995,16(2):109-111.
- [11] 李大辉,施国新,丁小余,等.  $\text{Cd}^{2+}$ 、 $\text{Hg}^{2+}$  对菱幼苗生长及其超氧化物歧化酶、过氧化物酶活性的影响[J]. 武汉植物学研究,1999,17(3):206-210.
- [12] 杨居荣,贺建群,张国祥,等. 不同耐性作物中几种酶活性对  $\text{Cd}^{2+}$  胁迫反应[J]. 中国环境科学,1996,16(2):113-117.
- [13] 覃信国,张小蕾,夏炳南. 强化 SOD 刺梨汁治疗镉中毒大鼠[J]. 中华劳动卫生职业病杂志,1998,16(1):47-49.