朱莉飞,李　伟,王赛赛,等. 氯化镉暴露对罗非鱼血液指标的影响[J]. 江苏农业科学,2019,47(18):217 – 219.
doi:10.15889/j.issn.1002 – 1302.2019.18.047

氯化镉暴露对罗非鱼血液指标的影响

朱莉飞[1], 李　伟[2], 王赛赛[1], 张　欣[1]
(1.北京市水产科学研究所,北京 100068; 2.中国科学院生态环境研究中心,北京 100085)

摘要:血液是脊椎动物的重要组织之一,鱼类血液指标变化可反映机体健康状况、行为能力及环境胁迫等。开展了罗非鱼氯化镉($CdCl_2$)短期(7 d)半静态暴露试验,浓度梯度为 0、0.05、0.50、5.00 mg/L,通过鱼血液生理指标、血气及血浆生化指标评估氯化镉暴露对罗非鱼血液系统干扰效应。结果表明,氯化镉暴露导致罗非鱼血液嗜中性粒细胞水平降低;淋巴细胞比例升高;单核细胞比例、嗜碱性粒细胞比例、红细胞数量、平均红细胞血红蛋白含量、平均红细胞血红蛋白浓度和红细胞体积分布宽度较对照组无显著变化;血红蛋白含量和红细胞比容呈显著下降趋势。高浓度处理组中血浆 pH 值降低,但与对照组相比无显著变化;二氧化碳分压和红细胞积压较对照组显著降低;0.05、5.00 mg/L 处理组中血氧含量均显著高于对照组。生化指标结果表明:重金属暴露导致血浆尿素含量升高,其中高浓度组与对照组相比呈显著升高趋势;葡萄糖和总蛋白含量仅在 0.05 mg/L 处理组中存在显著性变化。结果表明,重金属镉暴露可引起鱼类血液系统紊乱。

关键词:氯化镉;罗非鱼;半静态暴露;血液指标;干扰效应
中图分类号: X171.5　　**文献标志码:** A　　**文章编号:**1002 – 1302(2019)18 – 0217 – 03

环境中重金属来源无外乎自然进程和人类活动。有研究表明,重金属具有稳定性,作为持久性环境污染物对生物体存在毒性效应[1]。重金属在水体、沉积物、水生生物中均有检出,因存在环境和健康风险问题而一直备受关注[2]。镉(Cd)暴露可引起生物体脑、肝脏、性腺、肾脏等器官的病理损伤。研究表明,氯化镉对尼罗罗非鱼的短期亚致死浓度暴露可导致尼罗罗非鱼的肝脏和肌肉总蛋白含量下降,干扰鱼体代谢系统[3]。重金属镉暴露抑制非洲鲫鱼肝脏线粒体氧化磷酸化作用,影响鱼体代谢功能[4]。血液是鱼类的重要组织之一,与生长、发育、代谢、营养和疾病均有密切的关系。鱼类血液指标受机体状况、环境因素等影响,可反映鱼类机体免疫系统变化,也是重要的生理、病理和毒理学指标[5-6]。本试验以罗非鱼为受试生物,开展氯化镉($CdCl_2$)暴露对罗非鱼血液指标影响研究,为重金属污染对水生生物毒性效应研究提供基础数据,同时可以更好地理解重金属镉对鱼类的毒性效应和毒理机制。

收稿日期:2019 – 07 – 02
基金项目:公益性行业(农业)科研专项(编号:201503108);国家自然科学基金(编号:21407166);北京市自然科学基金(编号:8152017)。
作者简介:朱莉飞(1983—),女,山东枣庄人,博士,助理研究员,主要从事水生态毒理学研究。E – mail:zhulifei@live.com。

1　材料与方法

1.1　试验材料

试验所用的罗非鱼饲养于北京市水产科学研究所小汤山基地,选取规格一致[体长(17.13 ± 0.72) cm,体质量(86.12 ± 5.69) g]且无伤病的罗非鱼作为试验对象。养殖用水为经活性碳过滤并曝气的自来水(pH 值为 7.2 ~ 7.6,硬度为 44.0 ~ 61.0 mg/L),水温控制在(25 ± 1) ℃,溶氧量不低于 7 mg/L,光/暗培养时间为 16 h/8 h。饲养期总投喂量为体

逆性;大林姬鼠的心脏、肝脏、肾脏、脑、肺脏组织蛋白谱带的活性及分布存在差别。这与物种间基因的选择性表达密切相关。

参考文献:

[1]任清明,刘国平,杨国平,等. 黑龙江省中俄边境地区鼠类的调查研究[J]. 中国媒介生物学及控制杂志,2009,20(3):219 – 220.
[2]辛　笛. 低氧环境对大林姬鼠生活节律及血液生理生化指标的影响[D]. 牡丹江:牡丹江师范学院,2017.
[3]曹　健. 横道河子林区大林姬鼠肥满度的研究[J]. 黑龙江科技信息,2015(19):64 – 65.
[4]金建丽,刘泓玮,曹明星,等. 棕背鼠平,红背鼠平血清蛋白比较分析[J]. 黑龙江畜牧兽医,2018(17):190 – 193.
[5]蔡　赫,陈佳丽,金建丽,等. 贵妃鸡雌雄个体血清蛋白比较分析[J]. 黑龙江畜牧兽医,2016(11):227 – 229.
[6]俞海东,韩荣勋,罗静波,等. 小鼠胎儿与幼鼠脑蛋白的 SDS – PAGE 分析[J]. 长江大学学报(自然科学版),2017,14(18):44 – 46,4 – 5.
[7]金建丽,杨春文,金志民,等. 患骨肿瘤黑熊血清蛋白的电泳分析[J]. 贵州农业科学,2010,38(10):139 – 141.
[8]黄体冉,张国庆,王文平,等. SDS – 聚丙烯酰氨凝胶电泳法测定蛋白质相对分子质量的改良和优化[J]. 高校实验室工作研究,2016(3):63 – 66.
[9]闫佳续,金建丽,杨春文,等. 普通鵟雌雄个体血清蛋白比较分析[J]. 西南农业学报,2015,28(1):444 – 446.
[10]曹金虎,王令冉,罗静波,等. SDS – PAGE 法分析不同加工方法对鸡蛋蛋白质组成的影响[J]. 长江大学学报(自然科学版),2018,15(18):56 – 58,61,6.

质量的3%,1 d 投喂饲料 2 次,并及时清除多余饵料和排泄物。试验用氯化镉($CdCl_2$)纯度为 99.0%,分析纯级,购自北京百灵威科技有限公司。称取适量氯化镉溶于去离子水中,配制 5 g/L 氯化镉母液用于暴露试验。

1.2　试验方法

罗非鱼暴露试验在 50 L 玻璃养殖缸中进行,每缸 7 尾。$CdCl_2$ 半静态暴露试验浓度设置为 0、0.05(低浓度组)、0.50、5.00(高浓度组) mg/L,暴露周期为 7 d,每个浓度组 3 个平行。暴露结束后,采用麻醉剂 MS222(0.1 g/L)麻醉罗非鱼,用注射器从尾静脉取血,并迅速转入含抗凝剂采血管中备用,采血过程控制在 1 min 内。血液生理指标通过 Celltac ES 全自动血液细胞分析仪(日本光电工业株式会社)测定,生化指标通过荷兰威图 Selectra E 全自动生化分析仪测定,血气指标通过丹麦雷度 ABL80 FLEX 血气分析仪测定。

1.3　数据统计与分析

采用 SSPS 13.0 软件对试验数据进行方差分析和回归分析。采用方差分析方法分析氯化镉暴露组与空白对照组之间的差异,$P<0.05$ 表示差异显著,$P<0.01$ 表示差异极显著。

2　结果与分析

2.1　氯化镉对罗非鱼血液生理指标影响

表 1 表明,重金属暴露导致血液嗜中性粒细胞比例和嗜碱性粒细胞比例降低;淋巴细胞比例升高;0.05、0.50 mg/L 处理组中的单核细胞比例降低,5.00 mg/L 处理组升高,但于对照组相比均没有显著变化。罗非鱼嗜酸性粒细胞比例在 0.05 mg/L处理组中升高,但高浓度组降低。各浓度处理组罗非鱼红细胞数量无显著性变化,血红蛋白含量和红细胞比容呈显著下降趋势,平均血红蛋白含量、平均血红蛋白浓度、红细胞体积分布宽度和平均血红细胞体积与对照组相比均无显著性变化。

表 1　氯化镉暴露对罗非鱼血液生理指标影响

浓度(mg/L)	嗜中性粒细胞比例(%)	淋巴细胞比例(%)	单核细胞比例(%)	嗜酸性粒细胞比例(%)	嗜碱性粒细胞比例(%)	红细胞数量($\times10^{12}$个/L)
0	36.0±10.1	26.1±10.1	12.8±3.2	0.3±0.1	25.0±2.3	1.6±0.5
0.05	23.2±9.1	52.0±14.9	3.5±0.1	0.5±0.2	20.9±5.8	1.4±0.0
0.50	22.7±4.1	50.8±24.9	5.8±2.7	0.1±0.03	20.7±4.5	1.4±0.2
5.00	24.7±1.1	34.6±6.5	17.2±12.2	0.1±0.01	23.5±4.7	1.1±0.4

浓度(mg/L)	血红蛋白含量(g/L)	红细胞比容(%)	平均血红蛋白含量(pg)	平均血红蛋白浓度(g/L)	红细胞体积分布宽度(%,CV)	平均红细胞体积(fL)
0	90.0±28.3	29.3±7.7	167.5±2.1	330.0±9.9	16.5±0.1	109.50±0.71
0.05	71.5±0.7*	22.1±0.3*	157.5±2.1	323.5±7.8	16.7±0.1	105.00±1.41
0.50	75.0±7.1*	22.1±2.4*	164.5±3.5	339.5±5.0	17.3±1.0	113.50±7.78
5.00	58.5±24.8*	17.6±6.5*	160.5±0.7	328.5±19.1	15.4±2.7	98.60±17.54

注:*代表与对照组相比有显著性变化($P<0.05$)。下表同。

2.2　氯化镉对罗非鱼血气指标影响

表 2 表明,处理组罗非鱼血浆 pH 值在 0.50、5 mg/L 处理组中降低,但与对照组相比没有显著变化;处理组中二氧化碳分压和红细胞积压较对照组显著降低;处理组中血氧分压较对照组升高,其中 0.05、5.00 mg/L 处理组中血氧分压含量均显著高于对照组。

表 2　氯化镉暴露对罗非鱼血气指标影响

浓度(mg/L)	pH 值	二氧化碳分压(kPa)	血氧分压(kPa)	红细胞积压(%)
0(对照)	6.6±0.3	9.24±0.65	20.95±1.93	17.0±1.0
0.05	6.6±0.1	5.96±0.09*	34.51±3.66*	10.0±2.0*
0.50	6.3±0.2	6.72±0.20*	24.34±0.67	8.3±0.6*
5.00	6.5±0.1	6.02±0.33*	37.23±7.30*	1.0±0.2*

2.3　氯化镉对罗非鱼血浆生化指标影响

表 3 表明,重金属暴露导致血浆尿素含量升高,其中 0.50、5 mg/L 处理组尿素含量与对照组相比显著升高;0.05、0.5 mg/L 处理组中葡萄糖含量降低,5 mg/L 处理组中升高,仅在 0.05 mg/L 处理组中显著变化;0.05 mg/L 处理组中总蛋白和肌酐含量升高,0.5、5 mg/L 处理组中降低,但仅总蛋白含量在 0.05 mg/L 处理组达显著性变化。

表 3　重金属镉暴露对罗非鱼血浆生化指标影响

浓度(mg/L)	尿素含量(mmol/L)	葡萄糖含量(mmol/L)	总蛋白含量(g/L)	肌酐含量(μmol/L)
0	0.3±0.1	3.5±0.7	29.0±0.9	105.2±26.9
0.05	1.0±0.4	2.4±0.5*	42.5±12.8*	398.6±67.9
0.50	2.4±0.4*	2.8±0.4	25.6±1.3	113.5±4.9
5.00	1.5±0.3*	4.1±0.6	28.9±0.5	81.8±3.4

3　讨论与结论

鱼类血液指标受机体状况、环境因素等影响,可反映鱼体机体免疫系统变化,也是重要的生理、病理和毒理学指标。异育银鲫在饥饿和水霉感染的状况下,血红蛋白含量和红细胞比容会降低[7],低温胁迫可导致荷那龙罗非鱼红细胞数量、血红蛋白含量、白细胞比例和淋巴细胞比例减少[8],五倍子

提取物可导致尼奥罗非鱼血红蛋白浓度和红细胞积压降低。鱼类血液细胞组成和功能与哺乳动物相似,红细胞负责运输 O_2 和 CO_2,调节机体离子平衡;白细胞可分为淋巴细胞、单核细胞、嗜中性粒细胞细胞、嗜酸性粒细胞和嗜碱性粒细胞细胞等,负责机体炎症反应和免疫应答等功能[9-10]。本研究发现,$CdCl_2$ 暴露导致处理组血红蛋白含量和红细胞比容较对照组显著下降,嗜中性粒细胞、嗜碱性粒细胞、淋巴细胞和单核细胞比例与对照组相比均未达显著差异。红细胞数量、平均血红蛋白含量、平均血红蛋白浓度和红细胞体积分布宽度与对照组相比无显著性差异。血红蛋白含量和红细胞比容与血液气体运输相关[11],氯化镉处理组红细胞数量呈下降趋势,血红蛋白含量和红细胞比容降低表明重金属镉暴露可能造成罗非鱼血液携氧能力下降。携氧能力的下降同样预示了鳃组织发生病理变化,重金属 Cd 暴露可以导致半滑舌鳎(*Cynoglossus semilaevis*)[12]、草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)[13]鲤鱼(*Cyprinus carpio*)[14]和罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)[15]等水生动物鳃组织异常。

血气指标可反映生物体内血液气体和酸碱平衡情况。本研究发现氯化镉暴露导致罗非鱼血液 pH 值、二氧化碳分压、红细胞积压降低,表明重金属镉可导致鱼类机体内环境紊乱。哺乳动物呼吸急促可引起血液中二氧化碳浓度下降,导致机体酸碱失衡[16]。汪红军等开展斑马鱼外源重金属暴露试验时发现,Cd^{2+} 对斑马鱼呼吸参数预警浓度为 4.8 mg/L,重金属暴露可诱导斑马鱼呼吸频率和强度升高[17]。血红蛋白负责 O_2 运输[18],并参与脂质氧化过程,血液 pH 值降低可促进鱼体脂质氧化进程[19],高浓度组中氯化镉暴露导致罗非鱼血液 pH 值降低预示鱼体存在脂质过氧化损伤。重金属锌、镉单独暴露及联合暴露试验均表明,罗非鱼血液中还原型谷胱甘肽含量、过氧化氢酶和葡萄糖 - 6 - 磷酸脱氢酶活性增加[20]。

尿素是多数鱼类嘌呤代谢的终产物,可通过鳃或体表排出。铜离子可诱导中华鲟幼鱼血浆尿素、肌酐、血糖等生化指标的增加[21]。本研究结果显示,氯化镉暴露导致罗非鱼血液尿素含量升高,表明镉暴露有可能影响鱼类嘌呤代谢和氨排出。鳃是鱼类氨排泄的重要器官,鳃组织病理性损伤可能影响泌氨。肌酐含量可反映生物体肌肉活动量及化学物质对鱼体肾脏毒性效应,低浓度组镉暴露导致血液肌酐含量增加,高浓度处理组肌酐含量较对照组降低的现象。鱼体血糖含量可反映其活动强度,低浓度处理组葡萄糖含量要低于对照组,表明低浓度处理组中罗非鱼行动可能弱于对照组。有研究表明,重金属引发白鲢、草鱼和非洲鲫鱼的回避反应,但不同鱼类对重金属回避率不同,如白鲢对硫酸镉的回避率随药物浓度增加而增大,而草鱼和非洲鲫鱼回避率随剂量增加而成倒“U”形[22]。镉急性暴露可导致鲫鱼、草鱼、中华倒刺鲃和团头鲂具有跃出倾向,但随暴露时间延长跃出能力减弱[23]。

综上所述,氯化镉暴露会造成罗非鱼血液生理、生化及血气指标的改变,说明鱼类鳃组织、代谢系统和行为能力受重金属镉影响。血液指标可用于评估鱼类在重金属污染状况下的健康状况,利于确定进一步机理研究方向。

参考文献:

[1] Karadede - Akin H, Ünlü E. Heavy metal concentrations in water, sediment, fish and some benthic organisms from Tigris river, Turkey [J]. Environmental Monitoring & Assessment, 2007, 131(1/2/3): 323 - 337.

[2] Saghali M, Baqraf R, Patimar R, et al. Determination of heavy metal (Cr, Zn, Cd and Pb) concentrations in water, sediment and benthos of the Gorgan Bay (Golestan Province, Iran) [J]. Iranian Journal of Fisheries Sciences, 2014, 13(2): 449 - 455.

[3] Almeida J A, Novelli E L, Silva M P, et al. Environmental cadium exposure and metabolic responses of the Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* [J]. Environmental Pollution, 2001, 114(2): 169 - 175.

[4] 刘克强. 镉、铜对非洲鲫鱼肝线粒体功能影响的初步研究[J]. 海洋科学, 1984, 8(6): 29 - 31.

[5] 周　玉, 郭文场, 杨振国, 等. 鱼类血液学指标研究的进展[J]. 上海水产大学学报, 2001, 10(2): 163 - 165.

[6] 韩娜娜, 史成银. 血液指标在鱼类学研究中的应用[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(33): 18877 - 18878, 18880.

[7] 赵卫红, 孙益奎, 胡　洁, 等. 饥饿和水霉病对异育银鲫血液指标影响的研究[J]. 水利渔业, 2007, 27(3): 27 - 28.

[8] 陈　智. 低温胁迫对荷那龙罗非鱼血液生理生化指标的影响[D]. 湛江: 广东海洋大学, 2011.

[9] 周永灿, 邢玉娜, 冯全英. 鱼类血细胞研究进展[J]. 海南大学学报(自然科学版), 2003, 21(2): 171 - 176.

[10] 周　玉, 郭文场, 杨振国. 鱼类血细胞的研究进展[J]. 动物学杂志, 2001, 36(6): 55 - 57.

[11] 卓孝磊, 梁日深, 梁桂洪, 等. 月鳢、乌鳢和斑鳢血液指标、血细胞比较分析[J]. 科技导报, 2008, 26(13): 84 - 87.

[12] 徐永江, 柳学周, 于志刚, 等. 几种重金属离子对半滑组织损伤的研究[J]. 海洋水产研究, 2005, 26(6): 11 - 16.

[13] 王少博, 王维民, 郭亚楠, 等. 重金属镉和铬对草鱼苗的急性和慢性毒性效应[J]. 兰州大学学报(自然科学版), 2007, 43(4): 60 - 64.

[14] 关海红, 蔺玉华. 鲤鱼鳃组织结构及鳃对重金属离子的耐受性[J]. 水产学杂志, 2004, 17(1): 68 - 72.

[15] 柏世军, 许梓荣. 镉对罗非鱼鳃线粒体结构和能量代谢的影响[J]. 环境科学, 2007, 28(1): 160 - 164.

[16] Berman A. Estimates of heat stress relief needs for Holstein dairy cows[J]. Journal of Animal Science, 2005, 83(6): 1377.

[17] 汪红军, 李嗣新, 周连凤, 等. 5 种重金属暴露对斑马鱼呼吸运动的影响[J]. 农业环境科学学报, 2010, 29(9): 1675 - 1680.

[18] 余来宁, 杨　东, 刘红艳, 等. 十二种淡水鱼类血红蛋白与窒息点的相关分析[J]. 动物学杂志, 2017, 52(3): 478 - 484.

[19] 米红波, 郭　鑫, 李学鹏, 等. 鱼类血红蛋白诱导脂质氧化及其控制的研究进展[J]. 现代食品科技, 2016, 32(4): 297 - 304.

[20] Firat O, Kargin F. Effects of zinc and cadmium on erythrocyte antioxidant systems of a freshwater fish *Oreochromis niloticus* [J]. Journal of Biochemical and Molecular Toxicology, 2010, 24(4): 223 - 229.

[21] 章龙珍, 姚志峰, 庄　平, 等. 水体中铜对中华鲟幼鱼血液生化指标的影响[J]. 生态学杂志, 2011, 30(11): 2516 - 2522.

[22] 姜礼燔, 潘炳炎. 鱼类对重金属及农药的回避反应研究[J]. 环境科学, 3(6): 1 - 7.

[23] 房树林, 潘天扬, 闫玉莲, 等. 水体 Cd 暴露对长江上游几种常见鱼类急性中毒效应的比较研究[J]. 西南师范大学学报(自然科学版), 2016, 41(6): 81 - 89.