

# Cd<sup>2+</sup> 对黄河鲤肾脏 SOD 和 CAT 活性动态变化的影响

刘海芳<sup>1</sup>,王 凡<sup>2</sup>

(1. 中原工学院 能源与环境学院,河南 郑州 450007; 2. 洛阳师范学院 生命科学系,河南 洛阳 471022)

**摘要:** 为研究 Cd<sup>2+</sup> 对黄河鲤抗氧化能力的影响,采用静水暴露试验,将黄河鲤暴露于不同质量浓度(0、0.156 9、0.313 8、0.627 5、1.255 0 mg/L)Cd<sup>2+</sup> 水溶液中,分别于 24、48、72、96、120、144 h 取样,其中前 120 h 取样测定肾脏超氧化物歧化酶(SOD)活性,72 h 后取样测定过氧化氢酶(CAT)活性。结果显示,处理 48 h 时,0.156 9 mg/L Cd<sup>2+</sup> 暴露组 SOD 活性被抑制的幅度最大,而 1.255 0 mg/L Cd<sup>2+</sup> 暴露组 SOD 活性被诱导的幅度最大;在处理 72 h 时,0.156 9 mg/L Cd<sup>2+</sup> 暴露组 CAT 活性被抑制的幅度最大,而处理 120 h 时,0.313 8 mg/L Cd<sup>2+</sup> 暴露组 CAT 活性被诱导的幅度最大。以上结果表明,低剂量、短时间的 Cd<sup>2+</sup> 暴露,黄河鲤的肾脏抗氧化酶表现为被抑制,中剂量、较长时间表现为被诱导,随着剂量增大和时间延长,而后又表现为被抑制。

**关键词:** 镉;黄河鲤;肾脏;超氧化物歧化酶;过氧化氢酶

**中图分类号:** S949      **文献标志码:** A      **文章编号:** 1004-3268(2015)06-0147-04

## Dynamic Changes of Catalase and Superoxide Dismutase Activity in Kidney of Huanghe Carp Exposed to Different Cd<sup>2+</sup> Concentration

LIU Haifang<sup>1</sup>, WANG Fan<sup>2</sup>

(1. School of Energy & Environmental Engineering, Zhongyuan University of Technology, Zhengzhou 450007, China;  
2. Life Science Department, Luoyang Normal University, Luoyang 471022, China)

**Abstract:** To study the antioxidant capacity on Huanghe carp kidney induced by Cd<sup>2+</sup>, Huanghe carps were randomly divided into one control group and four different Cd<sup>2+</sup> exposure groups(0.156 9 mg/L, 0.313 8 mg/L, 0.627 5 mg/L and 1.255 0 mg/L). The SOD activity of kidney in Huanghe carp was measured at 24, 48, 72, 96, 120 h after Cd<sup>2+</sup> exposure, and CAT activity was measured at 72, 96, 120, 144 h, respectively. The results showed that the inhibiting degree of activity of SOD was maximal at 0.156 9 mg/L of Cd<sup>2+</sup>, and the inductive degree of activity of SOD was maximal at 1.255 0 mg/L of Cd<sup>2+</sup> after 48 h. The inhibiting degree of activity of CAT was maximal at 0.156 9 mg/L of Cd<sup>2+</sup> after 72 h, while the inductive degree of activity of CAT was maximal at 0.313 8 mg/L of Cd<sup>2+</sup> after 120 h. It was showed that SOD and CAT of kidney in Huanghe carp exposed to low level of short-term Cd<sup>2+</sup> were inhibited, then induced, and inhibited with the prolonging of the exposure time and the increasing of the concentration.

**Key words:** cadmium; Huanghe carp; kidney; SOD; CAT

当环境受到镉污染时,镉可以在生物体内富集,并可通过食物链转移到人体内。近年来,随着工农业现代化进程的加速,大量含镉的废水进入江河和湖泊,对水生生物造成了严重的危害,甚至造成一些

水生生物在水体中死亡。因此,对水质进行检测和寻找水生生物敏感的生物标志物尤为重要。

黄河鲤是我国四大名鱼之首,也是河南省的特色水产品种。近年来,监测发现黄河已受到不同程

度的镉污染,使水域生态平衡遭到严重破坏,黄河鲤鱼资源出现下降趋势。因此,筛选黄河鲤鱼敏感的生物标志物对于保护黄河鲤鱼资源及黄河水体环境有着重要意义。过氧化氢酶(CAT)和超氧化物歧化酶(SOD)是脊椎动物防御体系的2种重要保护酶,对污染胁迫极其敏感,很多水生生物中已经把这2个指标作为镉污染的生物标志物<sup>[14]</sup>。但到目前为止,尚未见镉对黄河鲤鱼SOD和CAT活性影响的研究报道。为此,进行了镉污染对黄河鲤鱼的暴露研究,测定了黄河鲤鱼肾脏CAT和SOD活性的动态变化,以期阐明镉对鱼类的致毒机制以及选择黄河鲤鱼敏感的生物指标提供参考。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

试验用黄河鲤鱼购买于洛阳市李楼火龙渔场,选取体长15.0~18.0 cm、体质量40.0~45.0 g的健壮个体为试验材料。在实验室内暂养于150 L水族箱,1周后进行正式试验,暂养期间定时喂食2次(8:00和19:00),并且在试验前1 d停止喂食。试验用水为暴晒24 h以上的自来水,水质标准:pH值为7.0~7.2;水温15~17℃。

### 1.2 仪器

主要仪器:紫外分光光度计(尤尼可UV-2000)、低温高速冷冻离心机(TCL-16G-A)、恒温水浴锅、研钵、解剖工具、离心管、微量移液管、滴定管、水族箱、计时表、玻璃比色皿。

### 1.3 试剂

CdCl<sub>2</sub>为分析纯,用蒸馏水配成10 mg/mL母液,再根据试验所需稀释成相应的质量浓度。

### 1.4 试验方法

1.4.1 试验设计 根据镉对鲤鱼急性毒性试验结果,96 h的LC<sub>50</sub>为2.51 mg/L<sup>[5]</sup>。试验中将Cd<sup>2+</sup>质量浓度设置为1/16 LC<sub>50</sub>(0.156 9 mg/L)、1/8 LC<sub>50</sub>(0.313 8 mg/L)、1/4 LC<sub>50</sub>(0.627 5 mg/L)、1/2 LC<sub>50</sub>(1.255 0 mg/L)4个处理组和1个对照组(0 mg/L)。每个试验组25尾黄河鲤鱼,装水至150 L,昼夜用微型充气机连续充气。试验时间为6 d,分别测定24 h、48 h、72 h、96 h和120 h肾脏的SOD活性以及72 h、96 h、120 h、144 h肾脏的CAT活性。

1.4.2 组织匀浆液的制备 分别于处理后24 h、48 h、72 h、96 h、120 h和144 h取样,每个试验组每次随机取出3尾,冲洗后擦干称质量,迅速将鱼体解剖,取出肾脏0.30 g放入0.86%的冷冻过的生理盐水清洗,再用滤纸吸干,放入加有石英砂和适量冰冻过的生理盐水的研钵内进行研磨。然后倾倒入

10 mL离心管内并用蒸馏水清洗研钵,把洗液倒入离心管中定容至8 mL。最后放入低温高速离心机中4℃、4 000 r/min离心20 min。取上清液(粗酶液),置于冰箱中(-20℃)待测,所有样品4 h内测定完毕。

1.4.3 酶蛋白含量测定 酶蛋白含量的测定采用考马斯亮蓝法(Bradford法)<sup>[6]</sup>。

1.4.4 酶活性测定 SOD活性测定采用改良后的邻苯三酚自氧化法<sup>[7]</sup>。基本步骤如下:邻苯三酚自氧化,取1支比色杯加入25℃预热过的pH值为8.2、50 mmol/L的Tris缓冲液2.98 mL,然后加入预热过的50 mmol/L邻苯三酚10 μL、10 mmol/L HCl 10 μL(空白管10 mmol/L HCl代替邻苯三酚),迅速摇匀,在325 nm波长处测定光吸收值,每隔30 s读数一次,测定4 min内每分钟光吸收值的变化。要求自氧化速率控制在每分钟的光吸收值为0.07 OD<sub>325</sub>/min(可增减邻苯三酚的加入量,以控制光吸收值)。SOD活性的测定与邻苯三酚自氧化速率的测定相同,在加入邻苯三酚前加入待测SOD样液10 μL,加入的邻苯三酚的量与自氧化速率为0.07 OD<sub>325</sub>/min的邻苯三酚的量一致。

SOD活性单位:每毫升反应液中,每分钟抑制邻苯三酚自氧化速率达50%的酶量定义为一个酶比活力单位。

CAT活性测定采用碘量法<sup>[8]</sup>。CAT活性定义为:单位样品鲜质量单位时间分解H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>量。单位为mg/(g·min)。

### 1.5 数据处理

每个样品进行3次平行测试,再将3次重复试验数据平均值进行t检验,分析各质量浓度处理组与对照组的差异显著性。

## 2 结果与分析

### 2.1 Cd<sup>2+</sup>对黄河鲤鱼肾脏SOD活性的影响

由图1可以看出,不同质量浓度Cd<sup>2+</sup>处理组黄河鲤鱼在不同处理时间,SOD活性呈现出不同的变化。其中,同一质量浓度处理在不同处理时间表现出不同规律:低质量浓度处理组(0.156 9 mg/L、0.313 8 mg/L)随着处理时间的延长,表现为先下降再升高的趋势,但与对照组相比,酶活性都处于被抑制状态,在处理短时间(24 h)时酶活性分别下降4.79%和28.80%,在48 h时酶活性最低,与对照组相比分别下降79.69%和79.31%,极显著受到抑制( $P < 0.01$ ),处理72、96、120 h酶活性上升但仍表现为被抑制,与对照组相比差异极显著( $P < 0.01$ ),分别下降了74.77%、60.13%、45.96%和58.69%、62.71%、

41.54% ;高质量浓度组(0.627 5 mg/L、1.255 0 mg/L)随着处理时间的延长,酶活性表现为抑制—诱导—抑制的趋势,在 96 h 时 0.627 5 mg/L 处理组与对照组相比差异不显著( $P > 0.05$ ),酶活性被诱导提高了 1.90% ,在处理 24、48、72、120 h 分别被抑制了 62.82%、60.36%、56.51%、39.56% ,与对照组相比差异极显著( $P < 0.01$ ) ;1.255 0 mg/L 处理组在处理 24 h 时被抑制 7.58% ,在 48 h 时被诱导激活,与

对照组相比差异不显著( $P > 0.05$ ),酶活性提高 3.84% ,处理 72、96、120 h 酶活性被显著抑制,较对照组分别极显著下降了 73.64%、71.67% 和 59.29%。对照组在不同的时间酶活性基本保持不变。  
上述结果同时也表明,各质量浓度处理组在相同时间内(除 24、48 h 外),随着 Cd<sup>2+</sup> 质量浓度的增大,黄河鲤 SOD 活性表现下降—升高—下降的相似变化趋势。

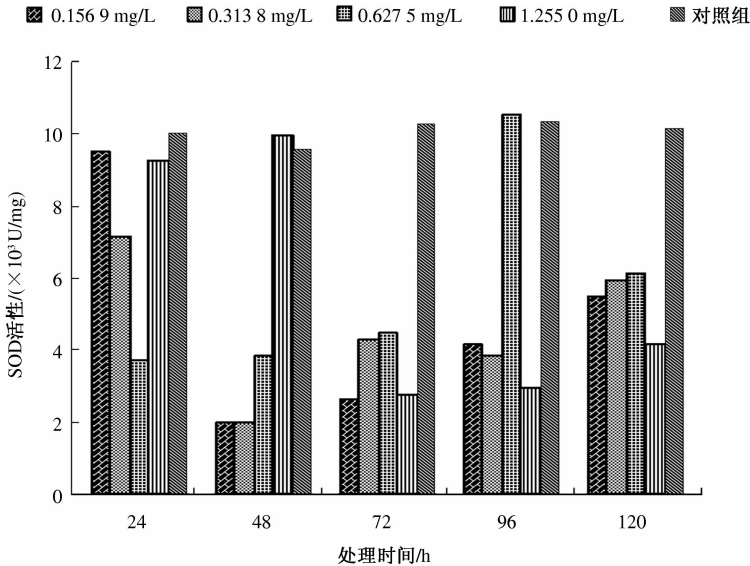


图 1 Cd<sup>2+</sup> 对黄河鲤肾脏组织 SOD 活性的影响

2.2 Cd<sup>2+</sup> 对黄河鲤肾脏 CAT 活性的影响

由图 2 可以看出,不同质量浓度 Cd<sup>2+</sup> 处理组黄河鲤暴露在各处理时间,CAT 活性呈现出不同的变化。处理 72 h、120 h、144 h,随着 Cd<sup>2+</sup> 质量浓度的增大,CAT 活性整体上表现为下降—升高—下降的相同趋势。在 72 h 时,0.156 9、0.313 8、0.627 5、1.255 0 mg/L Cd<sup>2+</sup> 处理组 CAT 活性均被极显著抑制,分别较对照组下降了 86.33%、65.84%、61.49% 和 63.98% ( $P < 0.01$ ) ;在 120 h 时,次低质量浓度组(0.313 8

mg/L)被诱导激活,酶活性较对照组提高了 31.48% ,差异极显著( $P < 0.01$ ),其他质量浓度组依次分别被抑制 47.22%、40.74% 和 50.00% ,差异极显著( $P < 0.01$ ) ;在 144 h 时,各质量浓度处理组与对照组相比均被极显著抑制( $P < 0.01$ ),分别下降 44.73%、23.68%、57.90% 和 50.00%。在 96 h,随着 Cd<sup>2+</sup> 质量浓度的增大,各处理组 CAT 活性表现为下降—升高的趋势,与对照组相比差异极显著( $P < 0.01$ ),分别下降 56.32%、26.44%、26.44%、10.35%。

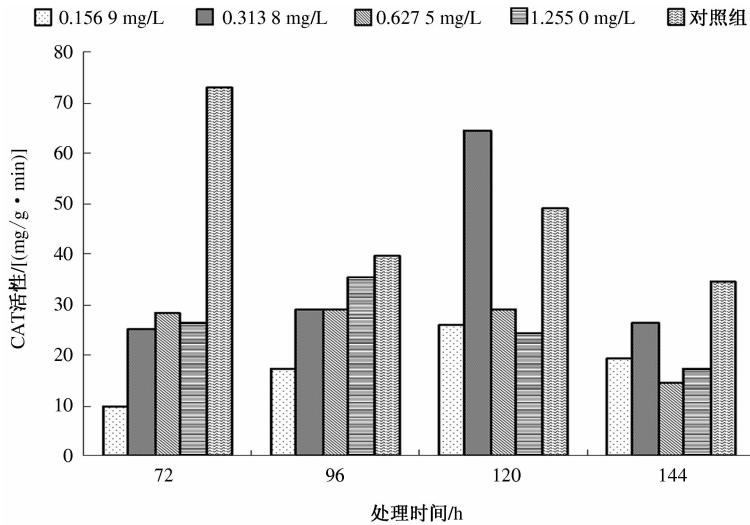


图 2 Cd<sup>2+</sup> 对黄河鲤肾脏 CAT 活性的影响

3 结论与讨论

本研究结果发现,同一质量浓度,随着处理时间的延长,或者同一时间,随着  $Cd^{2+}$  质量浓度的增大,黄河鲤肾脏 SOD 和 CAT 活性呈现相似的变化趋势,为抑制—诱导—抑制或者下降—升高—下降。在  $Cd^{2+}$  质量浓度很低或作用时间很短时,SOD 和 CAT 活性降低可认为是由于水体中镉在黄河鲤肾脏组织中的蓄积及活性氧自由基产生破坏了黄河鲤机体的生理平衡导致的,当  $Cd^{2+}$  离子质量浓度继续增加或者处理时间延长,黄河鲤机体的应激系统、抗氧化防御系统被全面激活,在自由基的诱导下 SOD 和 CAT 活性逐渐升高以清除过量的自由基,使机体免受氧化伤害,从而表现为这 2 种酶活性有不同程度的升高。由于自由基反应速度非常快,随着  $Cd^{2+}$  质量浓度继续升高或者处理时间的进一步延长,有些未得到及时清除的自由基对细胞产生了不可逆的伤害,细胞结构受到一定程度的损伤,细胞的衰老加速。SOD 和 CAT 活性研究的结果与王桂燕等<sup>[9]</sup>、吕景才等<sup>[10]</sup>、吴益春等<sup>[11]</sup>、鲁双庆等<sup>[12]</sup>以及孔祥会等<sup>[13]</sup>的研究结果相一致。

本研究结果表明,镉污染和黄河鲤肾脏的受伤程度存在明显的剂量 - 时间效应关系,CAT 和 SOD 的动态活性变化可以反映黄河鲤受到的伤害程度。

参考文献:

[1] 赵汉取,施沁璇,沈萍萍,等. 低浓度  $Cd^{2+}$  胁迫对青鱼组织 SOD 活性和 MT 诱导的影响[J]. 水生态学杂志, 2014,35(2):90-94.

[2] 史慧勤,张利军,苑小燕,等. 氯化镉暴露对斑马鱼幼

鱼神经行为毒性作用[J]. 生态毒理学报 2013,8(3): 374-380.

[3] Witeska M, Jezierska B, Wolnieki J. Respiratory and hematological response of tench, *Tinca tinca* (L.) to a short-term cadmium exposure [J]. Aquaculture International, 2006,14(1/2):141-152.

[5] 周辉明,吴志强,袁乐洋,等. 三种重金属对鲤幼鱼的毒性和积累[J]. 南昌大学学报:自然科学版,2005,29(3):292-295.

[6] Bradford M M. A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein-dye binding [J]. Anal Biochem,1976,72:248-254.

[7] 邹国林,陈东明,程林,等. 一种 SOD 的测活方法——邻苯三酚自氧化法的改进[J]. 武汉大学学报:自然科学版,1996,42(6):779-782.

[8] 赵亚华,高向阳. 生物化学实验技术教程[M]. 广州:华南理工大学出版社,2002:153-154.

[9] 王桂燕,胡筱敏,周启星,等. 镉对草鱼的急性毒性效应及 SOD 的影响[J]. 东北大学学报,2007,28(12):1758-1761.

[10] 吕景才,赵元凤,吴益春,等. 海水中铜在扇贝组织的蓄积及其对酶活性的影响[J]. 农业工程学报,2005,21(5):131-135.

[11] 吴益春,吕昕,王凡,等. Cu 在扇贝组织中的蓄积及其对酶活性的影响[J]. 应用与环境生物学报,2005,11(5):559-562.

[12] 鲁双庆,刘少军,刘红玉.  $Cu^{2+}$  对黄鳝肝脏保护酶 SOD、CAT、GSH - PX 活性的影响[J]. 中国水产科学,2002,9(2):138-141.

[13] 孔祥会,郭彦玲,刘占才,等. 汞离子暴露下草鱼肝胰脏过氧化氢酶活性动态变化[J]. 淡水渔业,2007,37(4):34-36.