

# 永煤塌陷区水污染对鲫鱼过氧化氢酶和 乳酸脱氢酶活性的影响

闫永峰, 郑娜, 李壹  
(商丘师范学院 生命科学系, 河南 商丘 476000)

**摘要:** 2010年5月, 选择永城煤矿塌陷区天然鱼塘的野生鲫鱼(*Carassius auratus*)为对象, 以相对无煤矿污染的商丘市天沐湖为对照, 研究了永城煤矿塌陷区低浓度混合重金属污染对鲫鱼血液过氧化氢酶(CAT)和血清乳酸脱氢酶(LDH)活性的影响。结果表明, 永城煤矿塌陷区鲫鱼CAT的OD值(0.600)极显著高于天沐湖鲫鱼CAT的OD值(0.411) ( $P < 0.01$ ), 塌陷区鲤鱼血清中LDH的OD值(0.310)极显著低于天沐湖鲫鱼CAT的OD值(0.421) ( $P < 0.01$ ), 说明煤矿塌陷区低浓度混合重金属污染对鲫鱼的正常生理过程有明显的抑制。

**关键词:** 永城煤矿塌陷区; 鲫鱼; 低浓度混合重金属污染; 过氧化氢酶; 乳酸脱氢酶  
**中图分类号:** S965.117   **文献标识码:** A   **文章编号:** 1004-3268(2011)01-0147-03

## Effect of Water Pollution on Activitiy of CAT and LDH of *Carassius auratus* in Yongcheng Coal Collapse Area

YAN Yong-feng, ZHENG Na, LI Yi  
(Department of Life Science, Shangqiu Normal University, Shangqiu 476000, China)

**Abstract:** To investigate the influence of low concentration mixed heavy metal pollution in Yongcheng coal collapse area towards the activitiy of blood catalase (CAT) and serum lactate dehydrogenase(LDH), *Carassius auratus* of Yongcheng coal collapse area was selected as the research object and that from a relatively pollution-free Tianmu lake of Shangqiu was used as the control. The results showed that compared to Tianmu lake, the activity of blood CAT and LDH of Yongcheng coal collapse area decreased significantly ( $P < 0.01$ ). The result suggested that the normal physiological process was inhibited by low concentration mixed heavy metal pollution.

**Key words:** Yongcheng coal collapse area; *Carassius auratus*; Low concentration mixed heavy metal pollution; Catalase; Lactate dehydrogenase

鱼类是水中生活的变温脊椎动物, 其生理代谢和生化反应在一定程度上受环境因素影响较大, 但生化反应的基本类型和主要产物还是相对保守和相似。同高等动物一样, 鱼类在健康状况发生变化或者对外界环境应激时, 血液中的一些酶类和代谢产物会发生变化<sup>[1]</sup>。因此, 血液指标被广泛地用来评

价鱼类的健康状况、营养状况及对环境适应能力, 是良好的生理、病理和毒理学指标<sup>[2]</sup>。

随着煤矿工业的快速发展, 煤矿开采面积的逐渐增加, 采煤塌陷区成为煤矿工业重要的地质灾害之一, 给当地居民的经济生活造成严重的影响。采煤塌陷区的形成是由于地下煤炭被开采后造成地面

下沉积水,形成不同的积水区域,这些积水区经简单治理后形成的鱼塘常年遭受煤矸石淋溶水的污染,导致水体严重污染。相关研究表明,煤矸石中含有大量的重金属<sup>[3]</sup>。有关重金属对鱼类及水生生物的急性毒性的研究国内已有许多报道<sup>[4-6]</sup>。环境中的重金属污染物铅(Pb)、镉(Cd)是世界野生动物基金会(WWF)确认的近70种环境因素中最重要的无机污染物。重金属离子通过破坏细胞膜或抑制细胞分裂导致水生生物生长、繁殖异常、生物体畸变甚至死亡<sup>[7]</sup>,对水生生态系统造成了严重的威胁。其中的重金属污染物因不能被生物降解、残留时间长和易通过食物链富集等特性,受到越来越多的关注<sup>[8]</sup>。因此,探索重金属污染物作用的本质,寻找对生物影响的有效检测指标成为了研究热点。目前,关于铜、镉、铅等重金属离子对动物器官系统影响的研究已有很多<sup>[9-11]</sup>,但多数以实验室染毒为主,而以煤矸石污染环境野生种群为研究对象,对自然界低浓度混合重金属污染的影响目前还没有文献报道。

鱼体内多种酶的活性变化能反映一般重金属毒物所引起的器官损伤程度,并可作为简单、有效的环境检测指标<sup>[12]</sup>。鉴此,本试验以鲫鱼血液中的过氧化氢酶(CAT)和血清乳酸脱氢酶(LDH)为指标,探讨自然界低浓度混合重金属污染对鲫鱼血液的影响,探索对这种污染的生物监测方法和检测体系,为低浓度混合重金属污染的治理提供有价值的参考资料。

## 1 材料和方法

### 1.1 研究样地概况

研究样地永城煤矿塌陷区(Yongcheng coal collapse area)位于河南省永城市十八里镇刘岗村(33°57'N, 116°21'E)。此塌陷区形成于2006年,面积近30hm<sup>2</sup>,塌陷积水区经简单治理后形成天然鱼塘。煤矸石是建造鱼塘池壁和铺设道路的主要材料,因此,该积水区污染源主要是煤矸石淋溶水,其中含有多重金属离子。

对照样地天沐湖(Tianmu lake)位于34°35'N, 115°41'E,属于商丘市黄河故道的一部分。商丘市黄河故道西起民权县,东至虞城县,全长134km,总面积约1520km<sup>2</sup>,故道内林茂粮丰、鸟语花香,大面积的湿地、草滩,构成了典型的河谷自然景观,为水生生物的生存及鸟类的栖息提供了良好的生态环境。天沐湖附近没有工矿企业等污染源,也没有有机物和重金属污染。

### 1.2 材料

以二龄鲫鱼为研究对象,于2010年5月同时在天沐湖和永城市煤矿塌陷区进行采样,选择大小和体质量类似的个体,其中天沐湖10尾,永城煤矿塌陷区10尾。

试剂:双蒸水、乳酸脱氢酶试剂盒、过氧化氢酶试剂盒。

仪器:高速冷冻离心机、可见分光光度计、恒温水浴箱、解剖器材、直尺、电子天平。

### 1.3 血样的采集

对鲫鱼分别进行尾动脉取血,取50μL新鲜血液加双蒸水至5mL充分混匀后放置10min,配成1:99的溶血液,即为测定CAT活性的血液样品。另取一部分血液,采用离心法(1000r/min离心3min),取其上清液,即为测定LDH活性的血清样品。

### 1.4 CAT活性的测定

试剂盒由南京生物工程研究所生产,其操作步骤按照试剂盒说明书进行。经反应的样本依次加入比色皿底部,测定吸光度(405nm),即OD值。每尾重复3次,取平均值。

### 1.5 LDH活性的测定

试剂盒由南京生物工程研究所生产,酶活性处理和测定按照试剂盒说明书进行操作。反应后采用分光光度计在440nm条件下,测各反应吸光度,即OD值。每尾重复3次,取平均值。酶活性以测定的对应OD值表示。

### 1.6 数据处理

利用SPSS12.0分析软件进行t检验,分析两样地OD值的差异性。数据采用算术平均值±标准差表示。

## 2 结果与分析

结果表明(表1),永城煤矿塌陷区鲫鱼CAT的OD值(0.600)极显著高于天沐湖鲫鱼CAT的OD值(0.411)( $P < 0.01$ )。CAT的OD值升高,表明CAT活性降低,这说明塌陷区鱼塘中的低浓度混合重金属污染抑制了鲫鱼体内的CAT活性。同时塌陷区鲤鱼血清中LDH的OD值(0.310)极显著低于天沐湖鲫鱼CAT的OD值(0.421)( $P < 0.01$ ),表明血清中的丙酮酸含量显著减少。这说明血清中LDH活性较低,其催化乳酸生成丙酮酸的能力减弱;鱼塘中的低浓度混合重金属污染也抑制了鲫鱼体内LDH的活性。

表 1 天沐湖和煤矿塌陷区鲫鱼 OD 值

样品 编号	CAT		LDH	
	天沐湖	塌陷区	天沐湖	塌陷区
1	0.478	0.397	0.490	0.327
2	0.501	0.571	0.250	0.403
3	0.397	0.627	0.616	0.361
4	0.522	0.718	0.490	0.335
5	0.453	0.739	0.415	0.312
6	0.327	0.402	0.397	0.312
7	0.317	0.790	0.367	0.315
8	0.390	0.665	0.355	0.286
9	0.352	0.443	0.450	0.201
10	0.371	0.645	0.379	0.251
平均值± 标准差	0.411± 0.073 25	0.600± 0.142 29	0.421± 0.098 48	0.310± 0.055 91
P	< 0.01		< 0.01	

3 讨论

CAT 和 LDH 在机体代谢中起着重要的作用。CAT 是广泛存在于生物体内的抗氧化防御性功能酶, 抗氧化防御系统的一个重要特征是其活性成分或含量可因污染的胁迫而发生改变。正常情况下, 生物体内的保护酶 CAT 能够及时清除自由基, 有效地催化 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 分解, 使其失去活性氧的作用, 从而避免机体受损。如果保护酶活性较强, 能够减少自由基等毒害物质的积累; 如果保护酶活性较弱, 生物体内自由基等毒害物质就会增加。试验结果表明, CAT 的 OD 值升高, 表明 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的浓度较高, 说明 CAT 的活性较低, CAT 的活性成分或含量由于煤矿塌陷区低浓度混合重金属污染胁迫而发生改变, 鲫鱼正常的生理过程受到抑制。

LDH 存在于有机体各组织器官中, 主要分布于细胞内, 是机体能量代谢中参与糖酵解的一种重要酶。当机体各组织器官发生病变时, 其组织器官本身的 LDH 要发生变化, 同时也引起血液中 LDH 的改变。LDH 在体内可催化乳酸和氧化性辅酶( NAD<sup>+</sup> ) 转变为丙酮酸和还原性辅酶I( NADH ), 参加机体的能量代谢。因此, LDH 含量的改变直接影响机体的能量代谢。试验中煤矿塌陷区鲫鱼血清中的丙酮酸含量显著减少, 表明 LDH 的活性受到抑制, 说明鲫鱼受到低浓度混合重金属毒害, 组织器官已发生一定程度的病变。

谭树华等<sup>[13]</sup>研究了 50g/ L 的铬在 14 d 内对克氏原螯虾鳃和肝胰腺抗氧化酶系统的影响, 结果表明, 肝胰腺中的 SOD、CAT 活性、总抗氧化能力和丙二醛含量均要高于鳃中的含量。申勋宇<sup>[14]</sup>发现, 低浓度铅( 0.01mmol/ L ) 对鲫鱼 CAT 活性具有一定的促进

作用, 高浓度铅对鲫鱼 CAT 活性具有抑制作用。国外大量的研究也发现, 小剂量与大剂量的同一重金属元素对同一生理生态反应具有相反的效应, 即小剂量的重金属离子对代谢有一定的促进作用, 而大剂量的重金属离子则抑制正常的生理生态过程<sup>[15-16]</sup>。但低浓度混合重金属对酶活性影响的报道甚少, 本试验中供试鱼 CAT 和 LDH 的活性降低, 说明低浓度混合重金属污染与大剂量的单一重金属离子作用类似, 这可能是由于生态因子的综合作用导致的。试验结果表明, 鲫鱼的 CAT 和 LDH 活性对重金属的反应比较敏感, 可以作为评价采煤塌陷区低浓度混合重金属污染的生物学检测指标。

参考文献

[1] 刘伟, 王立波, 支兵杰, 等. 不同环境鱼类血液生化指标的分析与比较[ J ]. 环境污染与防治: 网络版, 2009(3): 1-8.

[2] 闫永峰, 任培丽, 赵文军. 永城煤矿塌陷区水污染对鲫鱼外周血细胞数量的影响[ J ]. 河南农业科学, 2009( 10): 129-130.

[3] 白向玉, 贾红霞. 煤矸石中重金属在淋滤过程中的释放规律[ J ]. 环境科技, 2009, 22( 2 ): 5-8.

[4] 宋维彦, 辛荣, 李慷均. Hg<sup>2+</sup> 对 3 种水生生物的急性毒性作用研究[ J ]. 现代农业科技, 2009( 18 ): 266-267.

[5] 闫永峰, 王兵丽. 煤矿塌陷区水污染对鱼类肝细胞 DNA 的损伤[ J ]. 河南农业科学, 2010( 4 ): 111-113.

[6] 康永刚, 廖云琼. 植物源天然产物对鱼毒性与安全性评价[ J ]. 现代农业科技, 2007( 7 ): 113-114.

[7] 吕景才, 宋晓阳, 王凡, 等. 镉污染对鲢抗氧化防御系统影响研究[ J ]. 西南农业大学学报, 2002, 24( 6 ): 491-492.

[8] 陈皓, 陈桂珠, 叶志鸿. 红树林重金属污染生态学研究进展[ J ]. 生态学报, 2009, 29( 7 ): 3893-3900.

[9] 张晓姝, 王晓蓉. 不同镉暴露时间对鲫鱼幼体肝脏生理生化指标的影响[ J ]. 海湖盐与化工, 2003, 32( 2 ): 4-7.

[10] 高举, 赵欣平, 詹付凤, 等. 铅对鲫鱼碱性磷酸酶和酸性磷酸酶活性的影响[ J ]. 四川动物, 2008, 27( 2 ): 201-204.

[11] 王凡, 赵元凤, 吕景才, 刘长发. 铜污染对扇贝内脏抗氧化酶活性的影响[ J ]. 水产科学, 2008, 27( 12 ): 622-624.

[12] 成嘉, 符贵红, 刘芳, 等. 重金属铅对鲫鱼乳酸脱氢酶和过氧化氢酶活性的影响[ J ]. 生命科学研究, 2006, 10( 4 ): 372-376.

[13] 谭树华, 邓先余, 蒋文明, 等. 高浓度铬对克氏原螯虾抗氧化酶系统的影响[ J ]. 农业环境科学学报, 2007, 26( 4 ): 1356-1360.

[14] 申勋宇. 重金属铅对鲫鱼血清抗氧化能力的影响[ J ]. 安徽农业科学, 2010, 38( 2 ): 758-759.

[15] Cumming J R, Tomsett A B. Metal tolerance in plants: signal transduction and accumulation mechanisms[ M ] // Adriana D D. Biogeochemistry of Trace Metals. Boca Raton: Lew is Publishers, 1992: 329-364.

[16] Macnair M R. The genetics of metal tolerance in vascular plants[ J ]. New Phytophysio, 1993, 124: 541-559.