

Cu²⁺ 对日本沼虾的毒性研究

刘存歧 安通伟 张亚娟 王军霞 (河北大学生命科学学院, 河北保定 071002)

摘要 [目的] 探讨日本沼虾重金属中毒死亡的机制, 为其养殖水质管理提供依据。[方法] 采用直线内插法, 计算Cu²⁺ 对日本沼虾24、48、72、96 h的半致死浓度(LC₅₀), 通过胁迫试验, 测定日本沼虾肌肉中超氧化物歧化酶(SOD)、谷丙转氨酶(GPT)、谷草转氨酶(GOT)的活性。[结果] 24 h条件下Cu²⁺ 对日本沼虾24、48、72、96 h的LC₅₀分别为0.189、0.134、0.123、0.110 ng/L。随着Cu²⁺ 浓度的增加, 日本沼虾肌肉中SOD活性逐渐降低。Cu²⁺ 能明显抑制日本沼虾肌肉组织中GPT和GOT活性, 且随着Cu²⁺ 浓度的增大, 抑制作用增强。[结论] Cu²⁺ 对日本沼虾的毒性作用较强。Cu²⁺ 可能是通过影响日本沼虾体内的酶的功能而损害其各种生理活动, 从而使虾体受害。

关键词 Cu²⁺; 日本沼虾; 毒性

中图分类号 S968.22 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2008)28-12285-02

Toxicity Study of Cu²⁺ on *Macrobrachium nipponense*

LIU Cunqi et al (College of Life Sciences, Hebei University, Baoding, Hebei 071002)

Abstract [Objective] The aim was to discuss the mechanism of heavy metal inducing *Macrobrachium nipponense* toxic death and provide the basis for the water quality management of aquaculture. [Method] The median lethal concentration (LC₅₀) of Cu²⁺ to *M. nipponense* at 24, 48, 72 and 96 h was calculated by linear interpolation and the activity of superoxide dismutase (SOD), alanine transaminase (GPT) and aspartate aminotransferase (GOT) in muscle of *M. nipponense* was detected by stress experiment. [Result] The median lethal concentration (LC₅₀) of Cu²⁺ to *M. nipponense* at 24, 48, 72 and 96 h was 0.189, 0.134, 0.123 and 0.110 ng/L, resp. at 24 h. The SOD activity in muscle of *M. nipponense* was decreased gradually with the increase of the concn. of Cu²⁺. GPT and GOT activity in muscle of *M. nipponense* were inhibited by Cu²⁺ obviously and the inhibitory effect increased with the increase of the concn. of Cu²⁺. [Conclusion] The toxic effect of Cu²⁺ on *M. nipponense* was stronger. Cu²⁺ could damage all kinds of physiological activities through affecting the enzymatic function in the body of *M. nipponense* to make the *M. nipponense* body injured.

Key words Cu²⁺; *Macrobrachium nipponense*; Toxicity

日本沼虾 (*Macrobrachium nipponense*) 是我国重要的淡水养殖虾类, 经济价值较高, 深受养殖户青睐。但随着工业的迅速发展, 每年有大量的工业废水排入水体, 铜、镉等重金属随废水排入江河, 严重污染水质, 易造成水生生物的重金属中毒, 危害养殖户的利益和人们的身体健康。铜是动物体的必需元素, 研究发现, 当Cu²⁺ 浓度超过机体调节范围、在体内积累过多时, 则会引起中毒^[1]。但铜又是日本沼虾等血液中氧的载体——血蓝蛋白的中心原子, 因此缺少铜会对其生长发育产生明显的影响^[2]。邓道贵报道了铜对日本沼虾幼虾的急性致毒研究^[3], 但对日本沼虾体内一些酶活性影响的报道尚未见到。笔者研究了铜对日本沼虾成体的毒性, 以及在不同铜浓度下日本沼虾体内超氧化物歧化酶(SOD)、谷丙转氨酶(GPT)和谷草转氨酶(GOT)酶活性的变化, 探讨日本沼虾重金属中毒死亡的机制, 为养殖水质管理提供科学的依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料 试验用日本沼虾于2006年4月购于河北省白洋淀, 置于水族箱暂养10 d左右, 取健康活泼的个体作为试验用虾, 体长(4.42 ± 0.32) cm, 均重(1.98 ± 0.09) g。在暂养期间, 充气泵24 h不间断充气。试验用水为曝气自来水, pH值为8.0 ± 0.1, 水温为(24 ± 1) °C。硫酸铜为分析纯。

1.2 试验方法

1.2.1 急性毒性试验。对日本沼虾急性毒性试验设6个Cu²⁺ 浓度组和一个对照组, 即铜离子浓度分别为0(CK)、0.08、0.10、0.13、0.16、0.20、0.25 ng/L, 每组设平行。试验在30 cm × 20 cm × 15 cm的水箱中进行。每箱放入8尾虾。试验过程中充气, 不投喂。每天测定pH值和水温, 并使之保持恒定。试验过程中观测虾的中毒症状, 每隔24 h记数1次,

去除死亡个体。试验进行96 h, 具体方法参照周永欣和章宗涉^[4]的方法, 用直线内插法计算Cu²⁺ 的24、48、72和96 h的半致死浓度。

1.2.2 胁迫试验。试验条件同毒性试验。每箱放10尾虾。Cu²⁺ 浓度为0、0.016、0.025、0.040、0.063、0.100 ng/L, 每个浓度设2个平行。胁迫试验持续24 h, 其间充气不投喂。取肌肉进行酶活性测定。

1.2.3 酶活测定。超氧化物歧化酶(SOD)活性的测定, 参照静天玉和赵晓瑜改进的邻苯三酚自氧化率法^[5]。谷丙转氨酶(GPT)、谷草转氨酶(GOT)活性测定, 以丙酮酸作标准液, 按赖氏(Reitman Frankel)比色法^[6]测定组织转氨酶活力。

1.2.4 酶液蛋白质含量测定。以牛血清白蛋白为标准物, 采用考马斯亮蓝法测定^[7]。

2 结果与分析

2.1 不同Cu²⁺ 浓度胁迫对日本沼虾急性毒性的影响 在试验过程观察到, 加入Cu²⁺ 以后, 短时间内虾比较活跃。3~4 h后, 游动逐渐缓慢, 最后伏于缸底静止不动, 随着中毒加深而死去, 虾体由健康的青灰色变为白色。随着时间的延长, 每缸虾体死亡比例上升, 说明日本沼虾受硫酸铜的毒害逐渐加深。

日本沼虾的Cu²⁺ 半致死浓度试验结果见表1。经计算可知Cu²⁺ 对日本沼虾24、48、72和96 h的半致死浓度分别为0.189、0.134、0.123和0.110 ng/L。

2.2 不同Cu²⁺ 浓度胁迫对日本沼虾SOD比活力的影响 由图1可知, 随着Cu²⁺ 浓度增大, SOD酶活力逐渐降低。

2.3 不同Cu²⁺ 浓度胁迫对日本沼虾GPT、GOT比活力的影响 由图2、3可见, 谷丙转氨酶(GPT)和谷草转氨酶(GOT)酶活力随Cu²⁺ 浓度增大均有逐渐减小的趋势。

3 结论与讨论

(1) 铜是动物体的必需元素, 是虾类血蓝蛋白的中心原

基金项目 河北省科学技术研究与发展指导计划项目(06276905)。

作者简介 刘存歧(1967-), 男, 河北昌黎人, 教授, 从事水产动物生理生态学研究。

收稿日期 2008-07-07

子,因此缺少铜会对其生长发育产生明显的影响。但当 Cu^{2+} 浓度超过机体调节范围、在体内积累过多时,则会引起中

表1 CuSO_4 对日本沼虾的急性毒性

Table 1 The acute toxicity of CuSO_4 to *Macrobrachium nipponense*

铜离子浓度 ng/L Cu^{2+} concentration	虾死亡率 Mortality rate of <i>M. nipponense</i> %			
	24 h	48 h	72 h	96 h
0	0	0	0	0
0.08	0	25	31	38
0.10	6	25	31	44
0.13	13	50	56	63
0.16	19	69	69	69
0.20	63	94	94	94
0.25	88	100	100	100

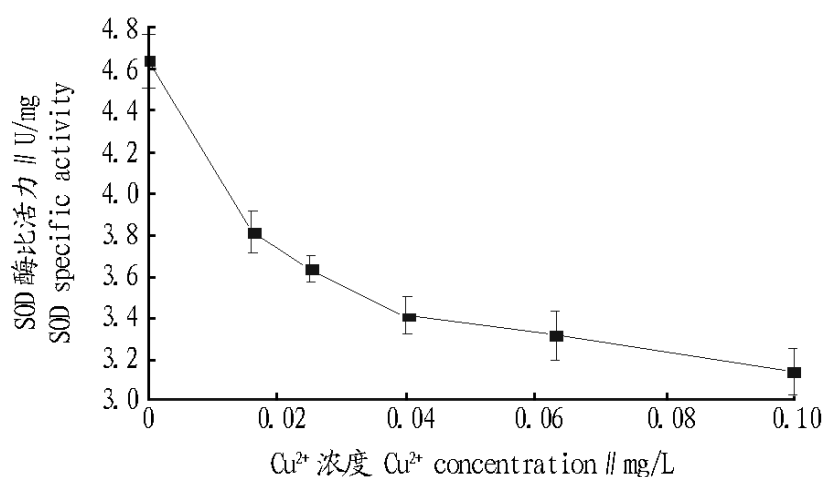


图1 CuSO_4 胁迫下日本沼虾肌肉中SOD酶比活力的变化

Fig. 1 The changes of SOD specific activity in the muscle of *M. nipponense* under CuSO_4 stress

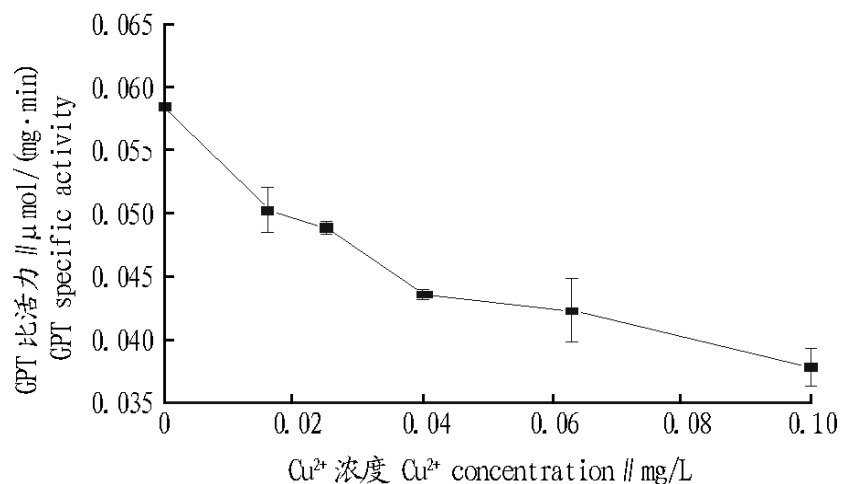


图2 不同浓度 CuSO_4 胁迫下日本沼虾肌肉中GPT比活力的变化

Fig. 2 The changes of GPT specific activity in the muscle of *M. nipponense* under the stress of CuSO_4 at different concentrations

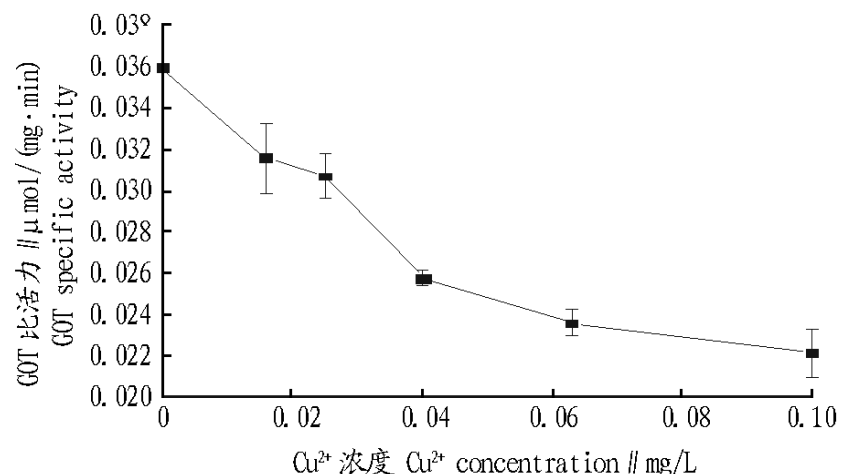


图3 不同浓度 CuSO_4 胁迫下日本沼虾肌肉中GOT比活力的变化

Fig. 3 The changes of GOT specific activity in the muscle of *M. nipponense* under the stress of CuSO_4 at different concentrations

毒^[2]。铜对虾体的毒性效应主要取决于铜的化学本质、存在形式,环境的理化因素,虾的种类等因素。从急性毒性试验结果来看,陆星家等研究 Cu^{2+} 对日本沼虾96 h LC_{50} 为0.104 ng/L,与该试验结果较为一致;姚庆祯的研究表明, Cu^{2+} 对南美白对虾的24、48、72和96 h的 LC_{50} 分别为4.50、2.80、1.60、0.80 ng/L,与该试验差异较大,可能是由于虾的种属差异性和虾体大小不同造成的。

(2) SOD是广泛存在于需氧生物细胞内的一种含金属的酶,是机体抗氧化酶系统的重要组成部分,它可以作为机体非特异性免疫指标,来判断免疫刺激剂对机体非特异性免疫力的影响^[8]。该试验结果表明,随着 Cu^{2+} 胁迫浓度的增加,SOD活性逐渐降低。可能是由于 Cu^{2+} 毒性较大,在各个浓度组胁迫下,机体内产生了较多的超氧阴离子自由基,对组织细胞造成损伤,影响机体的正常生理活动,使SOD活性降低和丧失。

(3) 谷丙转氨酶(GPT)和谷草转氨酶(GOT)是广泛存在于动物细胞线粒体中重要的氨基转移酶,在机体蛋白质代谢中起着重要的作用。有报道有毒重金属与此酶可能存在两种作用形式,一方面有毒金属可置换酶活性中心的必需金属,另一方面有毒重金属与酶的功能基团结合而引起酶活性变化或酶失活^[9]。该研究表明, Cu^{2+} 能明显抑制日本沼虾肌肉组织中GPT和GOT活性,且随着铜离子浓度的增大,抑制作用增强。据汤鸿等报道,在 Cu^{2+} (3.9~11.8 $\mu\text{mol}/\text{L}$)作用下,锯缘青蟹肝胰腺、鳃丝和肌肉GPT、GOT活力随浓度的升高而降低,与该试验结果相似^[10]。Gil等^[11]与贾秀英等^[12]均报道 Cu^{2+} 能抑制鲫鱼肝、鳃和肾中的GOT和GPT的活性。说明 Cu^{2+} 能明显抑制水生生物机体中GOT和GPT的活性。

综上所述, Cu^{2+} 对日本沼虾的毒性作用较强,不同浓度的 Cu^{2+} 均可抑制虾体内的SOD、GPT和GOT的活性,推测 Cu^{2+} 可能是通过影响体内酶的功能而损害虾的各种生理活动,使虾体受害。

参考文献

- [1] 刘发义,吴玉霖,赵鸿儒,等.铜在日本沼虾体内积累和致毒效应[J].海洋与湖沼,1988(19):133-138.
- [2] BROUWER M, WHALING P, ENGEL D W. Copper metalloproteins in the American lobster *Homarus Americanus*: Potential role as $\text{Cu}(\text{II})$ donors to apocynocyanin[J]. Environ Health Perspect, 1986,65:93-100.
- [3] 邓道贵,张桂凤,耿雪侠. Cu^{2+} 对日本沼虾幼虾的急性致毒研究[J].淮北煤炭师范学院学报,2002,23(3):36-38.
- [4] 周永欣,章宗涉.水生生物毒性试验方法[M].北京:农业出版社,1989:11-27.
- [5] 静天玉,赵晓瑜.一种改进的邻苯三酚法测定超氧化物歧化酶活性的方法[J].生物化学教育生物物理进展,1995(1):13-15.
- [6] 袁玉荪,朱婉华,陈钧辉.生物化学实验[M].北京:高等教育出版社,1988:217-223.
- [7] BRAIDFORD M M. A rapid sensitive method for the quantities of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding[J]. Anal Biochem,1976,72:248-253.
- [8] OBERLEY L W, BUFFNER G R. Role of superoxide dismutase in cancer[J]. Cancer Research, 1979,39(4):1141-1149.
- [9] 吴坚.微量金属对海洋生物的生物化学效应[J].海洋环境科学,1991,10(2):58-62.
- [10] 汤鸿,李少菁,王桂忠,等.铜、锌、锡对锯缘青蟹仔蟹代谢酶活力影响的实验研究[J].厦门大学学报,2000,39(4):521-525.
- [11] GILL T S, TEWARI H, PANDEJ. In vivo and in vitro effects of cadmium on selected enzymes in different organs of the fish *Barbus conchonus* Ham(rosy barb)[J]. Comp Biochem Physiol C,1991,100(3):501-505.
- [12] 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.