

DOI: 10.13718/j.cnki.xdzk.2017.01.011

重金属锌对大型溞 SOD、CAT 酶活性和 GSH 含量的影响^①

张楠^{1,2}, 张清靖², 贾成霞², 曲疆奇², 吕光俊¹

1. 西南大学(荣昌校区)水产系, 重庆 荣昌 402460; 2. 北京市水产科学研究所, 北京 100068

摘要: 研究了重金属锌对大型溞 *Daphnia magna* 的急性毒性, 并以大型溞 24 h 半致死浓度(24 h-LC₅₀)作为参考, 设定不同水平(0.2 mg/L, 0.31 mg/L, 0.5 mg/L, 0.79 mg/L, 1.26 mg/L, 2 mg/L, 3.2 mg/L) Zn²⁺ 对大型溞超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)活性和谷胱甘肽(GSH)含量的影响。结果表明: Zn²⁺ 对大型溞的 24 h-LC₅₀ 为 0.75 mg/L, LC₉₅ 为 15.63 mg/L, 95% 置信限为 0.55~1.04 mg/L; SOD 和 CAT 活性都随 Zn²⁺ 质量浓度增大先升后降, 且均在同一 Zn²⁺ 质量浓度(0.79 mg/L)时酶活性最高, 其值分别为(1 232.4±43.01) U/mg 和(106.5±2.65) U/mg; 而 GSH 含量则随 Zn²⁺ 质量浓度增大表现为先降后升, 且 Zn²⁺ 为 0.31 mg/L 时 GSH 含量最低, 其值为(35.6±9.31) U/mg。结论: 在 Zn²⁺ 的诱导下, 大型溞体内 SOD 和 CAT 活性及以 GSH 为底物的酶很好地表达了抛物线型剂量-效应关系, 可作为锌对大型溞毒性影响的生物标志物。

关键词: 重金属锌; 大型溞; 毒性试验; 过氧化氢酶; 超氧化物歧化酶; 谷胱甘肽

中图分类号: Q958.8

文献标志码: A

文章编号: 1673-9868(2017)01-0069-07

随着重金属污染物在水域生态系统中的富集现象越来越严重, 水生生物及生化指标作为检测重金属对水体污染程度的研究成为近年来水域生态学和 International 环境科学研究领域的热点问题之一^[1]。锌(Zinc, Zn)为生理所必需的微量元素, 是机体酶的辅基和维生素等重要的组成成分, 适度的摄入有助于提高水生生物的生长、繁殖, 增强免疫力及抗病能力^[2]。但当水体受到污染或机体过度摄入 Zn 元素, 水生生物将产生氧化应激反应, 从而破坏生物体的抗氧化酶防御系统, 进而导致生物体产生不良的生理反应, 甚至死亡^[3]。因此, 对于水生生物抗氧化系统在重金属胁迫下的研究, 既丰富了水生动物的生理资料, 又为健康水生动物养殖提供了可靠的科学依据, 同时也可间接地反映水环境中氧化污染物的存在, 对灵敏地监测生态污染指标有着重要的意义^[4]。

大型溞 *Daphnia magna* 在水域生态系统中广泛分布, 具有生活周期短、繁殖快、易于在实验室培养、对毒物敏感、经济简便等优点, 加之其在水域生态系统中的重要性, 已经被广泛用于各种水质毒性评估和水生生物毒性试验^[5], 是国际标准组织(ISO)公认的检测水质标准实验的生物之一。

目前关于重金属锌对水生动物急性毒性实验的报道较多^[6-7], 对大型溞毒性试验也有相关报道^[8-9], 但从毒性试验角度出发进而观察机体内过氧化氢酶(Catase from micrococcus lysodeikticus, CAT)、超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase, SOD)和谷胱甘肽(Glutathione, GSH)的变化, 在建鲤幼鱼 *Cyprinus*

① 收稿日期: 2015-10-10

基金项目: 国家“十二五”科技支撑计划项目(2012BAD25B03); 国家大宗淡水鱼类产业技术体系项目(CAR-46-26); 西南大学博士基金项目(2010BSr06)。

作者简介: 张楠(1990-), 女, 吉林四平人, 硕士研究生, 主要从事渔业资源环境研究。

通信作者: 吕光俊, 副教授。

carpio var. Jian, 凡纳滨对虾 *Litopenaeus vannamei*, 中华绒螯蟹 *Eriocheir sinensis* Milne-Edwards 等动物中有过报道^[10-12], 尚未见到重金属锌(Zinc, Zn)对大型溞有关酶活性影响的报道. 为此, 本文旨在以大型溞为受试生物, 通过急性实验得出其半致死浓度 LC_{50} , 并以 LC_{50} 作为参考, 设置不同质量浓度对其超氧化物歧化酶的研究, 为大型溞毒性检测中的抗氧化指标提供参考和积累基础资料.

1 材料和方法

1.1 试验材料

试验所需重金属锌由 $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ 分析纯获得, 由广东西陇化工有限公司生产, 用去离子水配制成 5 mg/L 母液, 试验时稀释成所需质量浓度.

大型溞由北京市水产科学研究所实验室提供, 在人工气候箱(RTOP-500D)中进行克隆培养[温度 $(23 \pm 1)^\circ C$ 、光暗比 12 h: 12 h、湿度 50%]. 挑选健康个体使其处于孤雌生殖状态, 连续培养 3 代以上达到试验所需幼溞数量. 试验前挑选出生 6~24 h 的健康活泼幼溞进行毒性试验^[13]. 试验用水为曝气除氯 24 h 以上的自来水, pH=8.7, DO(溶氧)为 6~8 mg/L. 大型溞饵料为四尾栅藻 *Scenedesmus quadricanda*, 投饵密度为 $2.0 \times 10^5 \sim 3.0 \times 10^5$ cells/mL.

组织中可溶性蛋白质含量, 抗氧化指标 SOD, CAT 活性及 GSH 含量的测定均采用南京建成生物工程研究所试剂盒的方法测定.

1.2 试验方法

1.2.1 急性毒性试验

急性毒性试验采用静态更新试验方法, 在人工气候箱中进行. 根据预实验找出被测物使全部大型溞运动受抑制的质量浓度和最大耐受质量浓度范围, 然后在此范围内按等对数间距^[13]分别设置 7 个试验组(0.2 mg/L, 0.31 mg/L, 0.5 mg/L, 0.79 mg/L, 1.26 mg/L, 2 mg/L, 3.2 mg/L)和 1 个空白对照组, 每个试验组设置 8 个平行. 试验容器为 150 mL 烧杯, 盛放 120 mL 试验溶液, 每个烧杯放入 60 只个体均匀, 出生 6~24 h 的大型溞幼溞. 受试溞的死亡标志参考资料参考文献[13]. 试验期间不换试验溶液, 不喂食, 24 h 后观察大型溞存活状况, 并取存活大型溞作为酶源. 应用 SPSS19.0 软件对死亡率进行统计分析, 得到 $ZnSO_4$ 溶液对大型溞 24 h- LC_{50} 值及相应的 95% 置信区间.

1.2.2 酶源的制备

取出 24 h 后各质量浓度下存活的大型溞作为酶源, 用滤纸吸出水分, 准确称取组织质量之后, 加入 9 倍体积的生理盐水(0.86%), 组织匀浆器充分研磨, 冰水浴条件下匀浆后制得 10% 的组织匀浆. 将制好的匀浆液用高速冷冻离心机($4^\circ C$, 2 500 r/min)离心 10 min, 取上清液待稀释成各种抗氧化指标所需要的最佳取样质量浓度.

1.2.3 超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)和谷胱甘肽(GSH)的测定

分别根据 SOD 试剂盒、CAT 试剂盒和 GSH 试剂盒的使用说明(南京建成生物工程研究所生产)测定 SOD, CAT 活性和 GSH 含量.

1.2.4 数据处理

急性试验数据依照 Logarithmic concentration-Probit assays 方法进行处理, 将死亡溞数转换成概率单位, 计算出实验质量浓度对数, 求出概率单位与实验质量浓度对数的回归方程. 试验数据以“平均值±标准差”表示, 试验数据采用 SPSS19.0 Duncan 法(Duncan's multiple range test)多重比较分析差异显著性, 显著性水平若 $p < 0.05$, 则表示差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 Zn^{2+} 对大型溞的急性毒性

Zn^{2+} 对大型溞的急性毒性实验结果见表 1. 从表 1 可以看出, 随着 Zn^{2+} 质量浓度升高, 大型溞死

亡率呈明显的上升趋势, 当 Zn^{2+} 质量浓度达到 3.2 mg/L 时, 大型蚤在 24 h 内全部死亡, 且各试验组比对照组死亡的蚤数量均显著增多 ($p < 0.05$). Zn^{2+} 对大型蚤的 24 h- LC_{50} 为 0.75 mg/L, LC_{95} 为 15.63 mg/L, 95% 置信限为 0.55~1.04 mg/L, 概率单位与实验质量浓度对数的直线回归方程为 $Y = 5.1530 + 1.2495x$ ($R^2 = 0.9690$).

表 1 Zn^{2+} 对大型蚤急性毒性试验的死亡率

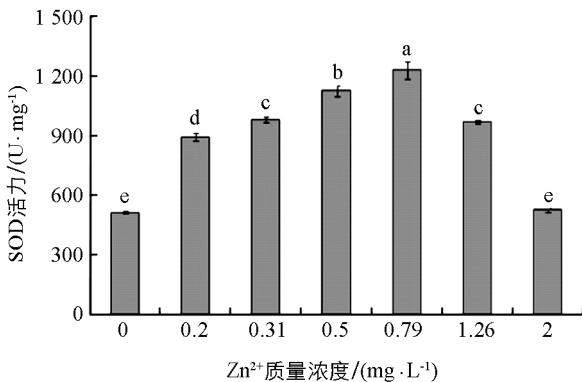
Zn^{2+} 质量浓度/ ($mg \cdot L^{-1}$)	试验蚤数/ 只	死亡蚤数/ 只	死亡率/ %	校正死亡率/ %	校正死亡率 机率值
对照	60	0	0	—	—
0.2	60	14.00±3.27a	23.33	0.2333	4.2721
0.31	60	18.50±1.87b	30.83	0.3083	4.4994
0.5	60	25.50±2.17c	42.50	0.4250	4.8109
0.79	60	31.00±2.83d	51.67	0.5167	5.0418
1.26	60	36.00±1.52e	60.00	0.6000	5.2533
2	60	48.00±2.03f	80.00	0.8000	5.8416
3.2	60	60	100.00	1.0000	—

2.2 Zn^{2+} 对大型蚤 SOD 酶活性的影响

Zn^{2+} 作用下大型蚤组织中 SOD 活性的变化见图 1. 由图 1 可见, 随着试验液中添加的 Zn^{2+} 质量浓度增大, 大型蚤组织中 SOD 活性逐渐升高, 当 Zn^{2+} 质量浓度增大到 0.79 mg/L 时, 大型蚤组织中 SOD 活性达到最大值 (1232.4 ± 43) U/mg, 且与添加的其他 Zn^{2+} 质量浓度下的 SOD 活性值差异显著 ($p < 0.05$); 当 Zn^{2+} 质量浓度大于 0.79 mg/L 时, 蚤组织中 SOD 活性值随着 Zn^{2+} 质量浓度增大逐渐降低; 当 Zn^{2+} 质量浓度增大到 2 mg/L 时, 蚤组织中 SOD 活性值下降到 (526.9 ± 12.6) U/mg, 与对照组蚤组织中 SOD 活性值 (515.2 ± 5.78) U/mg 无显著性差异 ($p > 0.05$).

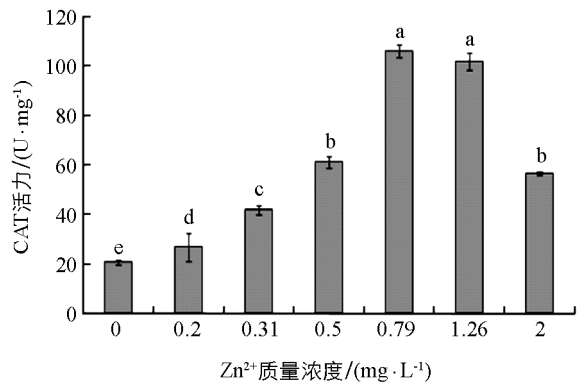
2.3 Zn^{2+} 对大型蚤 CAT 酶活性的影响

Zn^{2+} 作用下大型蚤组织中 CAT 活性的变化见图 2. 由图 2 可见, 无 Zn^{2+} 添加的对照组蚤组织中 CAT 活性值为 (20.7 ± 1.03) U/mg, 随着试验液中添加的 Zn^{2+} 质量浓度增大, 大型蚤组织中 CAT 活性逐渐升高, 当 Zn^{2+} 质量浓度增大到 0.79 mg/L 时, 大型蚤组织中 CAT 活性达到最大值 (106.5 ± 2.65) U/mg; 当 Zn^{2+} 质量浓度大于 0.79 mg/L 时, 蚤组织中 CAT 活性值随着 Zn^{2+} 质量浓度增大逐渐降低; 当 Zn^{2+} 质量浓度增大到 2 mg/L 时, 蚤组织中 CAT 活性值下降到 (56.9 ± 0.65) U/mg. 试验液中添加的 Zn^{2+} 质量浓度 ≤ 2 mg/L 时, 其蚤组织中 CAT 活性值都显著地高于对照组 ($p < 0.05$).



柱上小写字母不同表示差异具有统计学意义 ($p < 0.05$).

图 1 在不同添加水平 Zn^{2+} 下大型蚤 SOD 活性值变化



柱上小写字母不同表示差异具有统计学意义 ($p < 0.05$).

图 2 在不同添加水平 Zn^{2+} 下大型蚤 CAT 活性值变化

2.4 Zn^{2+} 对大型蚤 GSH 含量的影响

Zn^{2+} 作用下大型蚤组织中 GSH 含量的变化见图 3. 从图 3 中可见, 对照组大型蚤组织中 GSH 含量为 (2434.6 ± 115.94) U/mg, 随着试验液中添加的 Zn^{2+} 质量浓度增大, 大型蚤组织中 GSH 含量先逐渐降低,

当 Zn^{2+} 质量浓度增大到 0.31 mg/L 时, 大型蚤组织中 GSH 含量达到最小值(835.6 ± 9.31) U/mg; 随着 Zn^{2+} 质量浓度逐渐增大, 蚤组织中 GSH 含量逐渐升高, 而且各 Zn^{2+} 质量浓度组蚤组织中 GSH 含量不仅显著比对照组高($p < 0.05$), 而且各组间的值也存在显著差异($p < 0.05$).

3 讨论

3.1 Zn^{2+} 对大型蚤的急性毒性影响

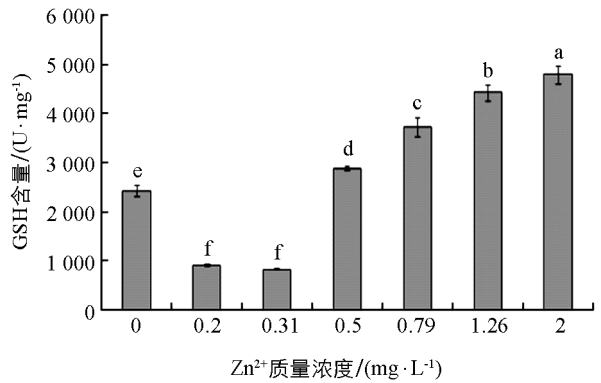
水生蚤类在生态系统能量金字塔中起着重要作用, 通常大型蚤作为初级消费者将能量从植物向动物转移^[14], 而水体中的一些质量浓度的 Zn 等重金属会对大型蚤产生毒性, 从而导致其世代更替不仅会影响到种群数量、能量之间的分配和循环, 最终还会影响水生蚤类的群落结构. 重金属 Zn^{2+} 对水生生物的毒性主要是 Zn^{2+} 与水生生物体内大分子作用的结果. Zn^{2+} 虽然是必需金属, 但质量浓度过高时可以置换酶活性中心的其他必需金属离子或者直接与酶的功能基团结合使其结构改变导致酶失活^[15]. 此外, DNA 和 RNA 都含有许多可结合金属离子的活性位点和非活性位点, 同样可以与 Zn^{2+} 结合, 使遗传信息在传递过程中出现错误, 对水生生物产生毒性作用^[15].

王建国等^[16]报道了 $ZnSO_4$ 对中华绒螯蟹 *Eriocheir sinensis* 仔蟹、克氏原螯虾 *Procambarus clarkii* 幼虾及田螺 *Cipangopaludina chinensis* Gray 的 24 h- LC_{50} 分别为 18.39, 84.48, 89.34 mg/L. 在本实验中, $ZnSO_4$ 对大型蚤的 24 h- LC_{50} 仅为 0.75 mg/L, 这可能是由于重金属对于水生生物的毒性强度除了与其总量及形态有关, 还与环境(如温度、pH 值等)有关, 同时与生物自身的耐受性、大小、质量等都密切相关^[17-18]. 大型蚤明显身体小, 体质量轻, 因而耐受性相对较低. 陈娜等^[19]在 Zn^{2+} 对水螅 *Hydra* sp. 急性毒性效应的研究中发现, 水螅的 24 h- LC_{50} 为 4.8 mg/L; 赵含英^[20]报道了 Zn^{2+} 对萼花臂尾轮虫 *Brachionus calyciflorus* 的 24 h- LC_{50} 为 1.65 mg/L. 尽管大型蚤个体比水螅和萼花臂尾轮虫大, 分类地位更高, 但本研究发现其对于 Zn^{2+} 的敏感性比水螅和萼花臂尾轮虫的敏感性更高, 说明不同物种、个体对于 Zn^{2+} 的敏感性存在差异.

3.2 Zn^{2+} 对大型蚤 SOD, CAT 酶活性的影响

超氧化物歧化酶(SOD), 过氧化氢酶(CAT)等是生物体抗氧化防御系统中重要的酶类, 在预防机体受到外界损伤中有关键作用. Zn^{2+} 等重金属离子进入水生生物体内后, 体内可产生大量的自由基, 若不及时清除, 则破坏生物体活性氧的平衡. 此时机体内抗氧化酶系统启动, 对抗活性氧的清除和胁迫, 抵御不良环境的伤害. SOD 可以有效地清除机体内的活性氧, 同时又产生 H_2O_2 , 而 H_2O_2 的清除由 CAT 抗氧化机制完成^[21-22]. 因此, SOD 和 CAT 的活性检测在水域生态系统重金属的污染中受到了广泛重视^[4].

在本研究中, 大型蚤体内的 SOD 和 CAT 均在低质量浓度 Zn^{2+} 下被诱导, 随溶液中 Zn^{2+} 质量浓度逐渐升高, SOD 和 CAT 活性值也随之上升, 当 Zn^{2+} 质量浓度达到 0.79 mg/L 时, 其酶活力均最好, 之后开始下降. 这是因为达到一定质量浓度的 Zn^{2+} 可能与带羧基或氨基的蛋白分子结合, 导致许多酶系统活性受到抑制, 最后组织不能正常运作, 致使大型蚤死亡^[23]. Zn^{2+} 对酶效应曲线呈现出先升高再下降的趋势, 很好地表达了抛物线型剂量-效应关系^[24], 对于重金属的污染检测及抵抗不良环境有着重要的意义. 于庆云等^[25]报道了镉和铅对菲律宾蛤仔脂质过氧化及抗氧化酶活性的影响, 结果表明在金属胁迫初期, 随质量浓度加大, 抗氧化酶应激系统被激活, 导致其消化组织中 SOD 和 CAT 酶活性显著升高, 超出对照水平, 诱导效应明显, 但随着质量浓度加大, 损伤程度进一步扩大, SOD 和 CAT 酶活性缓慢回落, 使得其活性呈现出明显的先升高再下降的趋势, 充分体现了低质量浓度促进, 高质量浓度抑制的现象^[26]. Rodriguer-Ariza 等^[27]报道了污染淡水水域中的鲮鱼 *Mugil cephalus* 比未受污染水域的鲍鱼肝脏 CAT 活性显著升高, 一定



柱上小写字母不同表示差异具有统计学意义($p < 0.05$).

图 3 在不同添加水平 Zn^{2+} 下大型蚤 GSH 含量的变化

质量浓度后抑制, Mather-Mihaich 等^[28]同样发现生活在有造纸厂排放废水水体中的鲟鱼 *Ictalurus Punctatus* 有此现象. 本研究与吴众望等^[11]对重金属离子对凡纳滨对虾肝脏、鳃丝和血液 SOD 活性的影响研究及潘鲁青等^[12]分析重金属离子对中华绒螯蟹肝脏和鳃丝 SOD, CAT 活性的影响所得的结果都基本一致. Stebbing^[29]认为毒物在低质量浓度下出现的这种增益现象, 是其在无毒情况下的刺激反应, 他把这一现象称为“毒物兴奋效应”.

3.3 Zn²⁺对大型蚤 GSH 含量的影响

还原型谷胱甘肽(GSH)是机体内最重要的非酶性抗氧化物, 是一种低分子清除剂, 具有清除自由基、解毒、促进铁质吸收、维持组织生长发育及细胞免疫等多种生理生化功能; 同时也是组织中主要的非蛋白质巯基化合物, 还是 GSH-PX 和 GSH-ST 两种酶的底物, 在维持生物体内适宜的氧化酶系统中有着重要的作用^[30-31]. Stein 等^[32]认为生物体内总 GSH 可以用作检测环境质量污染程度的标志物. 因此, GSH 含量变化多用作表示重金属污染的生态毒理学指标.

在本研究中, 大型蚤体内 GSH 含量随溶液中 Zn²⁺质量浓度的增加呈先下降后上升的趋势. 巩秀玉等^[33]研究了壬基酚对波纹巴非蛤 *Paphia undulata* 胁迫后其外套膜中 GSH 含量的变化情况; 冯涛等^[34]报道了苯并(a)芘胁迫对大弹涂鱼 *Boleophthalmus pectinirosris* 胁迫后肝脏中 GSH 含量的变化, 其 GSH 含量变化趋势与本研究结果都基本一致. 在 Zn²⁺低质量浓度下以 GSH 为底物的酶被诱导, 且 GSH 本身也参与亲电自由基的去除, 当 Zn²⁺质量浓度升高到 0.31 mg/L 左右时, 大量的 GSH 被消耗, GSH 含量达到最低值; 随着 Zn²⁺质量浓度继续升高, 越来越多的抗氧化酶失去活性, 消耗 GSH 的酶活性被抑制, 使得 GSH 逐渐积累, 抗氧化系统被破坏, 使得机体清除 H₂O₂ 能力逐渐降低. 许阳光^[35]在研究苯醚甲环唑和丙环唑对大型蚤体内谷胱甘肽-S-转移酶活性的影响中则发现, 在苯醚甲环唑作用下, 大型蚤体内 GST 活性与其质量浓度呈正相关, 而在丙环唑作用下, GST 活性则先升后降. 由于 GST 的活性增强会促进 GSH 与毒物的结合强度, 一次 GST 活性的变化代表了 GSH 含量的变化趋势. 可见, 大型蚤对不同毒物的解毒过程和程度还是有差异的. 目前关于重金属离子对水生生物 GSH 含量影响的报道不多, 还有待于进一步研究.

4 结 论

本试验是对重金属锌胁迫下大型蚤抗氧化酶系统的研究, 随着试验组溶液 Zn²⁺毒性增大, SOD 和 CAT 活性值也随之上升, 当 Zn²⁺质量浓度达到 0.79 mg/L 时, 其酶活力均最好. 而大型蚤 GSH 含量随溶液中 Zn²⁺质量浓度的增加呈先下降后上升的趋势. 当 Zn²⁺质量浓度达到 0.31 mg/L 左右时, 以 GSH 为底物的酶诱导达到最佳. 机体抗氧化酶指标的变化在很大程度上反映环境毒物对水生生物的毒性, 抗氧化酶指标中各种酶之间既互相关联又彼此独立, 因此在分析和评价污染物对水生生物的毒性效应时有着重要意义. 目前关于重金属对大型蚤抗氧化酶系统研究的报道并不多, 本研究可为水生生物毒理试验丰富资料, 也进一步为大型蚤毒性检测中的抗氧化指标提供参考.

参考文献:

- [1] 徐镜波, 马逊风, 侯文礼, 等. 温度、氨对鲢、鳙、草、鲤鱼的影响 [J]. 中国环境科学, 1994, 14(3): 214-222.
- [2] LEE M H, SHIAU S Y. Dietary Copper Requirement of Juvenile Grass Shrimp, *Penaeus Monodon* and Effects on Non-Specific Immune Responses [J]. Fish and Shellfish Immunology, 2002, 13(4): 259-270.
- [3] 戴家银, 郑微云, 王淑红. 铜和锌离子对真鲷幼鱼组织酶活性的影响 [J]. 环境科学, 1998, 19(5): 60-62.
- [4] 徐立红, 张涌元, 陈宜瑜. 分子生态毒理学研究进展及其在水环境保护中的意义 [J]. 水生生物学报, 1995, 19(2): 171-185.
- [5] SÁNCHEZ M, FERRANDO M D, SANCHO E, et al. Assessment of the Toxicity of a Pesticide with a Two-Generation Reproduction Test Using *Daphnia magna* [J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology, 1999, 124(3): 247-252.

- [6] 侯丽萍, 马广智. 镉与锌对草鱼种的急性毒性和联合毒性研究 [J]. 淡水渔业, 2002, 32(3): 44—46.
- [7] 程霄玲, 郑永华, 唐洪玉, 等. Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Cd^{2+} 对厚颌鲂幼鱼的联合致毒效应研究 [J]. 淡水渔业, 2009, 39(2): 54—59.
- [8] BODAR C W M, ZEE A V D, VOOGT P A, et al. Toxicity of Heavy Metals to Early Life Stages of *Daphnia magna* [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 1989, 17(3): 333—338.
- [9] 张 融, 范文宏, 唐 戈, 等. 水体中重金属镉和锌对大型蚤联合毒性效应的初步探究 [J]. 生态毒理学报, 2008, 3(3): 286—290.
- [10] 王艳艳, 姚俊杰, 梁正其, 等. Pb^{2+} 对建鲤幼鱼抗氧化酶活性和总抗氧化能力的影响 [J]. 淡水渔业, 2013, 43(1): 55—58.
- [11] 吴众望, 潘鲁青, 张红霞. 重金属离子对凡纳滨对虾肝胰脏、鳃丝和血液 SOD 活力的影响 [J]. 应用生态学报, 2005, 16(10): 1962—1966.
- [12] 潘鲁青, 任加云, 吴众望. 重金属离子对中华绒螯蟹肝胰脏和鳃丝 SOD、CAT 活力的影响 [J]. 中国海洋大学学报, 2004, 34(2): 189—192.
- [13] 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.
- [14] MARTÍNEZ-JERÓNIMO F, VILLASENOR R, RIOS G, et al. Effects of Food Type and Concentration on the Survival, Longevity, and Reproduction of *Daphnia magna* [J]. *Hydrobiology*, 1994, 287(2): 207—214.
- [15] 徐永江, 柳学周, 马爱军, 等. 重金属对鱼类毒性效应及其分子机理的研究概况 [J]. 海洋科学, 2004, 28(10): 67—70.
- [16] 王建国, 陆宏达. 硫酸锌对 4 种水生动物的急性毒性作用 [J]. 淡水渔业, 2009, 39(6): 28—33.
- [17] 张传永, 刘 庆, 陈燕妮. 重金属对水生生物毒性作用研究进展 [J]. 生命科学仪器, 2008, 6(11): 3—7.
- [18] 吴丰昌, 冯承莲, 曹宇静, 等. 锌对淡水生物的毒性特征与水质基准的研究 [J]. 生态毒理学报, 2011, 6(4): 367—382.
- [19] 陈 娜, 郝家胜, 王 莹, 等. 铜铅镉锌汞和银离子复合污染对水螅的急性毒性效应 [J]. 生物学杂志, 2007, 24(3): 32—35.
- [20] 赵含英. 金属离子农药对萼花臂尾轮虫毒性影响的研究 [D]. 南京: 南京师范大学, 2003.
- [21] ORBEA A, CAJARAVILLE M P. Peroxisome Proliferation and Antioxidant Enzymes in Transplanted Mussels of Four Basque Estuaries with Different Levels of Polycyclic Aromatic Hydrocarbon and Polychlorinated Biphenyl Pollution [J]. *Environmental Toxicology Chemistry*, 2006, 25(6): 1616—1626.
- [22] 徐凤彩. 基础生物化学 [M]. 广州: 华南理工大学出版社, 1999.
- [23] 张红霞, 潘鲁青, 刘 静. 重金属离子对日本鳎血淋巴抗氧化酶(SOD, CAT, GPx)活力的影响 [J]. 中国海洋大学学报, 2006, 36(S): 49—53.
- [24] WINSTON G W, DI GIULIO R T. Prooxidant and Antioxidant Mechanisms In Aquatic Organisms [J]. *Aquatic Toxicology*, 1991, 19(2): 137—161.
- [25] 于庆云, 王 悠, 徐 彦, 等. 镉和铅对菲律宾蛤仔脂质过氧化及抗氧化酶活性的影响 [J]. 生态毒理学报, 2013, 8(4): 504—512.
- [26] 王辅明, 朱祥伟, 马永鹏, 等. 低浓度五氯酚暴露对稀有鮕鲫体内 SOD 活性、GSH 和 HSP70 含量的影响 [J]. 生态毒理学报, 2009, 4(3): 415—421.
- [27] RODRÍGUEZ-ARIZA A, PEINADO J, PUEYO C, et al. Biochemical Indicators of Oxidative Stress in Fish from Polluted Littoral Areas [J]. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 1993, 50(12): 2568—2573.
- [28] MATHER-MIHAICH E, GIULIO R T D. Oxidant, Mixed-Function Oxidase and Peroxisomal Responses in Channel Catfish Exposed to a Bleached Kraft Mill Effluent [J]. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 1991, 20(3): 391—397.
- [29] STEBBING A R D. Hormesis the Stimulation of Growth by Low Levels of Inhibition [J]. *Science Environmental*, 1982, 22(1): 213—234.
- [30] LI Z H, ZLABEK V, GRABIC R, et al. Modulation of Glutathione-Related Antioxidant Defense System of Fish Chronically Treated by the Fungicide Propiconazole [J]. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*, 2010, 152(3): 392—398.
- [31] 刘 燕, 梁 敏, 张玄可, 等. 铬暴露对草鱼鳃抗氧化酶活性和脂质过氧化作用的影响 [J]. 西南大学学报(自然科学版), 2014, 36(5): 46—51.

- [32] STEIN J E, COLLIER T K, REICH W L, et al. Bioindicators of Contaminant Exposure and Sublethal Effects; Studies with Benthic Fish in Puget Sound, Washington [J]. Environmental Toxicology and Chemistry, 1992, 11(5): 701–714.
- [33] 巩秀玉, 陈海刚, 张喆, 等. 壬基酚对波纹巴非蛤(*Paphia undulata*)内脏团毒性效应 [J]. 生态学杂志, 2012, 31(6): 1473–1479.
- [34] 冯涛, 郑微云, 洪万树, 等. 苯并(a)对大弹涂鱼肝脏抗氧化防御系统影响的初步研究 [J]. 海洋科学, 2000, 24(5): 27–30.
- [35] 许阳光. 苯醚甲环唑和丙环唑对大型溞体内谷胱甘肽-S-转移酶(GST)活性的影响 [J]. 农药, 2012, 51(6): 441–444.

Effects of Heavy Metal Zinc on SOD and CAT Activities and GSH Content of *Daphnia magna*

ZHANG Nan^{1,2}, ZHANG Qing-jing², JIA Cheng-xia²,
QU Jiang-qi², LV Guang-jun¹

1. Department of Fisheries, Southwest University (Rongchang Campus), Rongchang Chongqing 402460, China;

2. Beijing Fisheries Research Institute, Beijing 100068, China

Abstract: In an experiment reported in this paper, the acute toxicity of heavy metal zinc (Zn^{2+}) on *Daphnia magna* was investigated. With the 24-h median lethal concentration (24 h-LC₅₀) of *D. magna* as a reference concentration, the species was treated with different levels of Zn^{2+} (0.2, 0.31, 0.5, 0.79, 1.26, 2 and 3.2 mg/L) and its SOD and CAT activities and GSH (glutathione) content were determined. The results showed that the 24-h-LC₅₀ of Zn^{2+} on *D. magna* was 0.75 mg/L, LC₉₅ was 15.63 mg/L, and the 95% confidence interval was 0.55 ~ 1.04 mg/L. With an increase in Zn^{2+} concentration, SOD and CAT activities first increased and then decreased, being the highest ($1\ 232.4 \pm 43.01$ U/mg for SOD and 106.5 ± 2.65 U/mg for CAT) at Zn^{2+} 0.79 mg/L. In contrast, GSH content first decreased and then increased with increasing Zn^{2+} concentration, and reached the lowest value (35.6 ± 9.31 U/mg) at Zn^{2+} 0.31 mg/L. In conclusion, the observed changes in the activities of SOD and CAT and GSH content under the induction of Zn^{2+} for *D. magna* suggest a good parabolic dose-response relationship, which can be used as biomarkers of toxicity effects of zinc on *D. magna*.

Key words: Zn^{2+} ; *Daphnia magna*; toxicity test; CAT; SOD; GSH

责任编辑 夏娟

