

镉对罗非鱼鳃线粒体结构和能量代谢的影响

柏世军, 许梓荣*

(浙江大学饲料科学研究所, 杭州 310029)

摘要:为探明水环境镉对罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)鳃线粒体结构和能量代谢的影响及其作用机理,本研究采用室内模拟方法,将罗非鱼在 Cd^{2+} 浓度为 0 $\mu\text{g/L}$ 、50 $\mu\text{g/L}$ 和 500 $\mu\text{g/L}$ 的水中暴露 7 d 后,观察鳃线粒体超微结构并测定线粒体超氧化物歧化酶(SOD)活性、丙二醛(MDA)含量和鳃组织中磷酸果糖激酶(PFK)、ATP 酶(ATPase)活性、乳酸(LD)、ATP、ADP、AMP 含量及血浆中 Na^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+} 浓度和渗透压,并计算能荷值(EC)。结果表明,50 $\mu\text{g/L}$ 组鱼鳃线粒体结构未受损,除 SOD 酶活性被显著诱导外,其余测定指标与对照组相比无显著差异($p > 0.05$);而 500 $\mu\text{g/L}$ 组鱼鳃线粒体严重受损,LD、MDA、ADP、AMP 和血浆 K^+ 含量显著高于对照组, SOD 和 ATPase 活性显著低于对照组($p < 0.05$), PFK 和渗透压无显著变化($p > 0.05$),但有降低趋势。结果表明,高浓度镉短期暴露将降低鱼鳃线粒体 SOD 活性而导致线粒体氧化损伤,同时抑制 ATPase 和 PFK 活性,影响鳃的能量供应和利用,最终降低鳃血浆渗透压和离子浓度调节能力可能是其毒性机理之一。

关键词: 镉; 罗非鱼; 鳃; 氧化损伤; 能量代谢

中图分类号: X171.5 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2007)01-0160-05

Effects of Cadmium Exposure on the Mitochondrion Structure and Energy Metabolism in Gill of Tilapia *Oreochromis niloticus*

BAI Shi-jun, XU Zi-rong

(Feed Science Institute of Zhejiang University, Hangzhou 310029, China)

Abstract: To explore the effects of waterborne cadmium (Cd) on the mitochondrion structure and cellular energy metabolism in gills of tilapia (*Oreochromis niloticus*) and possible mechanisms, specimens of tilapias were exposed to different Cd^{2+} concentrations (0, 50, 500 $\mu\text{g/L}$ freshwater) for 7 days under indoor simulate condition. At the end of the experiment, ultrastructure and superoxide dismutase (SOD) activity as well as malondialdehyde (MDA) level of branchial mitochondria were detected, while the phosphofructokinase (PFK) and ATPase activities and the contents of lactic acid (LD), ATP, ADP, AMP in gill tissues and osmolality, Na^+ , K^+ and Ca^{2+} concentrations in plasma were assayed, and the energy charge (EC) was also calculated. The results showed that the structure of mitochondria in fish exposed to 50 $\mu\text{g/L}$ Cd^{2+} was intact and there were no significant differences except the significant elevation in SOD activity in all biochemical indicators examined as compared to the control ($p > 0.05$). However, in fish exposed to 500 $\mu\text{g/L}$ Cd^{2+} , mitochondria were damaged severely, SOD and ATPase activities were decreased significantly whereas the contents of LD, MDA, ADP and AMP as well as concentration of K^+ in plasma in comparison with the control values were enhanced significantly ($p < 0.05$), in addition, there was a decreasing trend in PFK activity and plasma osmolality though the difference was not significant ($p > 0.05$). The present findings suggested that the short-term exposure to higher concentrations of Cd^{2+} would lead to the obstruction of energy supply and utilization due to inhibited ATPase and PFK activity as well as oxidative damage to mitochondria resulting from decreased SOD activity, and decrease the ability of gills to regulate the plasma ion composition and osmolality, which would be one of the possible mechanisms for Cd^{2+} toxicity.

Key words: cadmium; *Oreochromis niloticus*; gill; oxidative damage; energy metabolism

镉是一种重要的水体重金属污染物,具有非降解性和蓄积性,易对水生生物特别是鱼类产生毒害作用,导致各组织器官如肝、肾、脑等出现广泛的损伤以及影响鱼类的生长代谢^[1,2]。鱼鳃具有气体交换、离子和酸碱调节、氮排泄以及解毒等多种功能,在鱼类生命活动中发挥着极其重要的作用,也是水体污染物产生毒性作用的最初位点^[3],因此,研究水体污染物对鱼鳃的毒害作用具有十分重要的意义。

罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)是世界性养殖的主要鱼类^[4],也是我国出口创汇的主要鱼类之一^[5]。镉对罗非鱼同样具有毒害作用,可作为一种应激源导

致其代谢的改变^[4]。然而,鲜见关于镉对罗非鱼鳃的毒害作用的研究。本研究通过室内模拟养殖,研究短期暴露于不同浓度镉(分别为渔业水质标准的 5 倍和 10 倍)后罗非鱼鳃线粒体结构和能量代谢的变化情况,旨在为池塘养殖提供一定的科学依据以及探讨镉对罗非鱼鳃的毒性作用机理。

收稿日期: 2006-02-17; 修订日期: 2006-03-28

基金项目: 国家自然科学基金项目(30471255); 国家“985 工程”创新平台项目

作者简介: 柏世军(1977~),男,博士研究生,主要研究方向为水产养殖生态环境保护, E-mail: bsj11@zju.edu.cn

* 通讯联系人, E-mail: xuzirong@sohu.com

1 材料与方法

1.1 试验材料

同批同龄的健康罗非鱼购自杭州某无污染养殖场,体长(14.5 ± 0.5) cm,体重(35.5 ± 1.8) g.所用化学试剂和标准品购自 Sigma 和上海生物工程(Sangon)公司,丙二醛(MDA)、乳酸(LD)、超氧化物歧化酶(SOD)、ATP 酶(ATPase)测定试剂盒购自南京建成生物制品研究所.

1.2 试验方法

1.2.1 染毒和采样

将尼罗罗非鱼在水族箱中驯养 2 周(脱氯自来水,水温 $20 \sim 22^\circ\text{C}$, pH 为 $7.0 \sim 7.5$, DO 为 $6.5 \sim 7.8$ mg/L,以 CaCO_3 计硬度 118 mg/L)后无异常开始暴露试验,实验共设 3 个组,1 个对照组,2 个处理组.每组设 3 个重复,每个重复随机放罗非鱼 10 尾.将氯化镉($\text{CdCl}_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$,分析纯)配成 Cd^{2+} 浓度分别为 $50 \mu\text{g/L}$ 和 $500 \mu\text{g/L}$ 的 2 个浓度进行暴露试验.采用静水换液法,每天更新 50% 溶液,暴露时间共 7 d.整个试验期间所有处理组无死亡现象发生.为避免食物影响,整个暴露期不投饵料.暴露结束后每缸随机取 2 条鱼(每个处理共 6 条鱼),立即处死,迅速分离鱼鳃,用 4°C 的生理盐水漂洗其中血液,干净滤纸吸干用于测定.

1.2.2 生化分析

色谱分析测定鳃组织中 ATP、ADP 和 AMP 含量.将鱼鳃在 4°C 0.4 mol/L HClO_4 中制成 10% 匀浆.经超声粉碎后, Eppendorf 5804R 离心机低温离心(4°C , 5000 r/min , 20 min),取上清液 0.2 mL 加 3 mol/L K_2CO_3 0.1 mL 中和 HClO_4 ,漩涡振荡 2 min,高速离心(15000 r/min , 3 min),取 $20 \mu\text{L}$ 上清液进样,进行色谱分析.色谱柱为迪马十八烷基键合硅胶柱($4.6 \text{ mm} \times 250 \text{ mm}$),流动相为甲醇-磷酸缓冲液(pH6.0, 1:99),流速为 1.0 mL/min , JASCO UV/vis-1575 检测器,波长 254 nm .根据 ATP、ADP 和 AMP 测定值,按以下公式^[6]计算能量负荷(EC):

$$\text{EC} = (\text{ATP} + 1/2\text{ADP})/(\text{ATP} + \text{ADP} + \text{AMP})$$

按照试剂盒说明测定线粒体丙二醛(MDA)、乳酸(LD)含量以及超氧化物歧化酶(SOD)活性鳃组织 ATP 酶(ATPase)活性.

MDA 试剂盒测定原理:脂质过氧化物降解产物中的丙二醛(MDA)可与硫代巴比妥酸(TBA)缩合,形成红色产物,在 532 nm 处有最大吸收峰,用分光光度计比色测定吸光度值,计算 MDA 含量,单位为

nmol/mg.

LD 试剂盒测定原理:以氧化型辅酶 I (NAD^+) 为氢受体,乳酸脱氢酶(LDH)催化乳酸形成丙酮酸,使 NAD^+ 转化形成 NADH,其中吩嗪硫酸二甲酯(PMS)递氢使四氮硝基唑蓝(NBT)还原成紫色呈色物,呈色物的吸光度在 530 nm 时与乳酸含量成线性关系,据此计算乳酸含量,单位为 mmol/g.

SOD 试剂盒采用黄嘌呤氧化酶法测定,酶活单位定义为在 1 mL 反应液中,每 min SOD 抑制率达 50% 时所对应的酶量为 1 个亚硝酸盐单位,表示为 U/mg.

ATPase 试剂盒采用无机磷法测 ATPase 活性,活力以每 h 每 mg 蛋白分解 ATP 产生 $1 \mu\text{mol}$ 无机磷的量为 1 个 ATP 酶活力单位 $\mu\text{mol} \cdot (\text{mg} \cdot \text{h})^{-1}$.

磷酸果糖激酶(PFK)活性测定参照杜传书^[7]的方法进行.测定原理:糖酵解途径中,PFK 催化果糖-6-磷转变为果糖 1,6-二磷酸(FDP).生成的 FDP 通过醛缩酶、磷酸丙糖异构酶及 α -磷酸甘油脱氢酶的催化,生成 3-磷酸甘油.在磷酸二羟丙酮生成 3-磷酸甘油中伴有还原型辅酶(NADH)氧化为 NAD.本法通过测定 NADH 的消耗量来反映 PFK 活性.酶活性单位定义: 37°C , 每 min 每 mg 蛋白消耗 NADH 的 μmol 数,表示为 U/mg.

以牛血清白蛋白为标准,用 Lowry 法测定组织中的蛋白含量^[8].

采用日立 180-80 原子吸收分光光度仪测定 Na^+ 、 K^+ 和 Ca^{2+} 浓度,使用 LBST-873 冰点渗量计测定血浆渗透压.

1.2.3 结构观察

鳃丝通过 2.5% 戊二醛固定后,透射电镜观察线粒体超微结构改变.采用 Flameng^[9]线粒体半定量分析法分析受损程度,即在每个电子显微镜标本相同放大倍数下,随机选择 5 个视野,每个视野内又随机选择 20 个线粒体,使线粒体观察总数达 100 个.依受损程度逐个进行 0~4 级计分(级别越高,损伤程度越重),最后将 100 个线粒体所得的总分除以 100,即为该标本的得分.评分标准:0 级(0 分),结构正常;I 级(1 分),结构基本正常,基质颗粒丢失;II 级(2 分),线粒体肿胀,基质透明;III 级(3 分)线粒体微嵴断裂,基质凝固;IV 级(4 分)内外膜完整消失,呈空泡状.

1.3 试验数据统计处理

以上所有试验数据均为 6 个数值的平均值,表示为平均值 $\pm$ 标准差的形式.用单因素方差分析进

行统计处理,显著水平设为 $p < 0.05$.

2 结果与分析

2.1 镉对罗非鱼鳃线粒体结构和计分影响

50 $\mu\text{g/L}$ 处理组罗非鱼鳃线粒体中 MDA 含量与对照组相比差异不显著,甚至比对照组还低,而 500 $\mu\text{g/L}$ 处理 MDA 含量显著提高了 59.01%(表 1).与对照组相比,50 $\mu\text{g/L}$ 处理组鳃线粒体 SOD 活性显著增加 12.67%,而 500 $\mu\text{g/L}$ 处理组鳃线粒体中 SOD 活性显著降低 23.33%(表 1).此外,暴露 1 周后,对照组和 50 $\mu\text{g/L}$ 处理组罗非鱼鳃线粒体结构完整、清晰,未见明显的肿胀或变性(见图 1a 和图 1b),线粒体计分分别为 0.25 和 0.28 ($p > 0.05$).而 500 $\mu\text{g/L}$ 处理组所取样本中都可可见鳃线粒体结构受损,主要表现为肿胀、空泡化、膜结构破损(见图 1c),线粒体计分

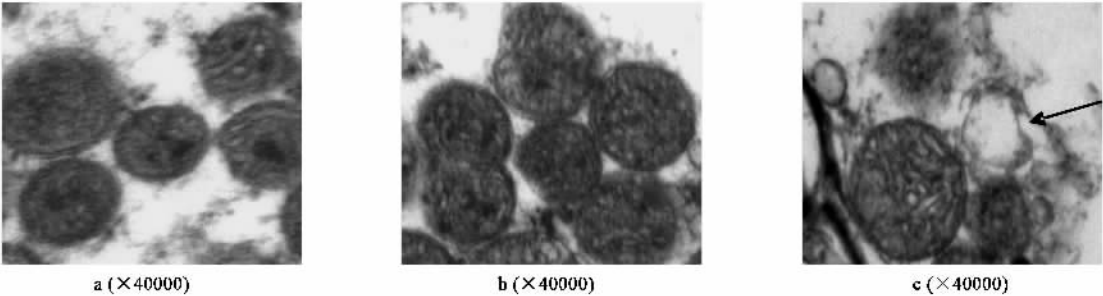
为 3.14 ($p < 0.05$). 以上结果说明,罗非鱼对 50 $\mu\text{g/L}$ 的镉具有一定的耐受能力;但高浓度镉胁迫作用下(500 $\mu\text{g/L}$),罗非鱼鳃线粒体中 SOD 活性降低,从而使其清除自由基的能力降低,最终导致线粒体膜受到氧化损伤、结构破坏,表现为 MDA 含量显著升高.

表 1 镉对尼罗罗非鱼鳃线粒体 MDA 含量和 SOD 活性以及线粒体计分的影响¹⁾($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 1 Effects of Cd^{2+} exposure on the content of MDA and the activity of SOD in mitochondria and mitochondria scoring in gills of tilapias($\bar{x} \pm s, n = 6$)

$\text{Cd}^{2+} / \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	MDA/nmol·mg ⁻¹	SOD/U·mg ⁻¹	计分
0	6.49 ± 0.18a	7.58 ± 1.13a	0.25 ± 0.04a
50	6.26 ± 0.38a	8.42 ± 2.09b	0.28 ± 0.03a
500	10.32 ± 1.27b	5.81 ± 1.02c	3.14 ± 0.16b

1)同列数据间字母不相同者差异显著($p < 0.05$),下同



a. 正常鱼鳃线粒体; b. 50 $\mu\text{g/L}$ 污染 7 d 的线粒体(结构正常); c. 500 $\mu\text{g/L}$ 污染 7 d 的线粒体(肿胀、膜受损、空泡化,箭头所示)

图 1 正常和 Cd^{2+} 污染后罗非鱼鳃线粒体结构

Fig. 1 Mitochondria in gills under normal condition and after Cd^{2+} exposure

2.2 镉对罗非鱼能量代谢的影响

由表 2 可知,在浓度为 50 $\mu\text{g/L}$ 的镉溶液中暴露 7 d 后,罗非鱼鳃中 ATP、ADP、AMP、LD 含量以及 PFK 活性略高于对照组,EC 则略低于对照组,但所有指标差异不显著($p > 0.05$),表明低浓度镉胁迫作用下,鱼鳃的能量供应和利用加强;500 $\mu\text{g/L}$ 的处理组与对照组相比,ATP 下降 46.31%而 ADP 和 AMP 分别提高 35.79%和 337.35%,EC 显著降低 39.53% ($p < 0.05$).表明高浓度镉使鱼鳃能量供应不足,同时由于合成能量的底物出现累积而使 EC 降低.另外,LD 含量是对照组的 4 倍($p < 0.05$),而 PFK 活性有下降趋势,但差异不显著($p > 0.05$).这说明由于鳃丝能量供应不足而代偿性地加强了糖酵解作用,致使胞内乳酸积累,同时抑制 PFK 活性,最终阻碍糖酵解反应,减少了能量的供应.

2.3 镉对罗非鱼鳃 ATPase、血浆离子浓度和渗透压的影响

试验结果表明,与对照组相比较,50 $\mu\text{g/L}$ 处理

组中暴露 1 周后的罗非鱼鳃 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 、 $\text{Ca}^{2+} - \text{ATPase}$ 含量以及血浆渗透压和 Na^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+} 含量无显著变化($p > 0.05$);500 $\mu\text{g/L}$ 处理组罗非鱼鳃 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 和 $\text{Ca}^{2+} - \text{ATPase}$ 分别降低 36.84%和 50.29%;血浆 Na^+ 、 Ca^{2+} 含量分别降低 9.38%和 25.52%,而 K^+ 含量增加 11.27%,与对照组相比差异显著($p < 0.05$),血浆渗透压比对照组降低了 3.71%,但差异不显著($p > 0.05$)(表 3). 这表明镉通过降低 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 活性引起罗非鱼鳃能量利用以及逆浓度梯度转运 $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ 的能力降低,同时还通过抑制 $\text{Ca}^{2+} - \text{ATPase}$ 而降低鳃对钙的吸收,从而导致血液离子组成和渗透压调节紊乱,表现为 Na^+ 、 Ca^{2+} 含量降低,而 K^+ 含量增加.

3 讨论

本试验所用镉浓度(50 $\mu\text{g/L}$ 和 500 $\mu\text{g/L}$)已经被证实对罗非鱼(*O. niloticus*)鱼种是亚致死(CdCl_2 : 96-h LC_{50} 18.58 mg/L)^[10]浓度. 在天然水体中,镉的

表 2 镉对尼罗罗非鱼鳃能量代谢的影响($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 2 Effects of Cd²⁺ exposure on the energy metabolism of gills of tilapias($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Cd ²⁺ / $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	ATP/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	ADP/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	AMP/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	EC	LD/ $\text{mmol}\cdot\text{g}^{-1}$	PFK/U $\cdot\text{mg}^{-1}$
0	32.46 $\pm$ 1.47a	26.82 $\pm$ 2.34a	7.47 $\pm$ 1.83a	0.86 $\pm$ 0.07a	0.08 $\pm$ 0.01a	4.96 $\pm$ 1.22a
50	36.91 $\pm$ 2.52a	28.66 $\pm$ 1.84a	9.43 $\pm$ 3.15a	0.68 $\pm$ 0.12a	0.10 $\pm$ 0.03a	5.85 $\pm$ 1.32a
500	17.43 $\pm$ 2.25b	36.42 $\pm$ 1.77b	32.67 $\pm$ 4.13b	0.52 $\pm$ 0.03b	0.41 $\pm$ 0.14b	4.12 $\pm$ 0.95a

表 3 镉对尼罗罗非鱼鳃 ATPase、血浆渗透压和离子浓度的影响($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 3 Effect of Cd²⁺ on the osmolality and ion concentrations in plasma of tilapias($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Cd ²⁺ / $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	Na ⁺ -K ⁺ -ATPase / $\mu\text{mol}\cdot(\text{mg}\cdot\text{h})^{-1}$	Ca ²⁺ -ATPase / $\mu\text{mol}\cdot(\text{mg}\cdot\text{h})^{-1}$	渗透压 / $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$	Na ⁺ / $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$	K ⁺ / $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$	Ca ²⁺ / $\text{g}\cdot\text{dL}^{-1}$
0	5.89 $\pm$ 0.38a	6.86 $\pm$ 0.47a	307.19 $\pm$ 25.73a	162.56 $\pm$ 8.68a	3.46 $\pm$ 0.48a	13.32 $\pm$ 2.46a
50	6.01 $\pm$ 0.23a	6.81 $\pm$ 0.54a	312.54 $\pm$ 26.58a	160.46 $\pm$ 9.24a	3.34 $\pm$ 0.98a	13.65 $\pm$ 3.42a
500	3.72 $\pm$ 0.26b	3.41 $\pm$ 0.43b	295.82 $\pm$ 13.46a	147.31 $\pm$ 10.26b	3.85 $\pm$ 0.73a	9.92 $\pm$ 1.06a

浓度通常不到 0.1 $\mu\text{g/L}$ ^[11,12],但在采矿区,水体中镉浓度通常在 0.4 ~ 0.5 $\mu\text{g/L}$, 50 $\mu\text{g/L}$ 浓度也有报道^[11]. 此外,在受污染水域,鱼类还能通过食物富集一定数量的镉,因此,本研究所使用的镉浓度具有一定的代表性.

线粒体(mitochondrion)是细胞内能量形成主要场所,也是细胞内最易受损伤的细胞器,是镉损伤的主要细胞器之一^[13,14]. 本研究发现,500 $\mu\text{g/L}$ 的镉暴露 7 d 后,尼罗罗非鱼鳃丝线粒体结构受到破坏,这与冯健等在草鱼上的结果一致^[15]. 生命的进化使细胞发展了有效的抗氧化防御机制,各种抗氧化酶是一个最重要的防御体系,如广泛分布的 SOD 在胞浆和线粒体基质中起着重要的防御作用,其活性降低将导致生物体内氧自由基积累导致氧化损伤^[16],衡量质膜结构氧化损伤程度的一个重要指标是 MDA^[17]. 本研究表明,镉可以通过降低 SOD 活性而诱导机体氧化损伤,500 $\mu\text{g/L}$ 的镉会使尼罗罗非鱼鳃丝线粒体 SOD 酶活性明显降低,MDA 含量升高表明线粒体受到氧化损伤. 研究表明镉主要通过 2 种机制抑制 SOD 活性: 镉置换 CuZn-SOD 酶活性中心的 Zn^[18] 和抑制 SOD 基因表达^[16]. 镉究竟采用何种机制抑制尼罗罗非鱼鳃丝线粒体中 SOD 活性还需进一步的研究.

能量负荷(EC)是衡量细胞能量状态的一个重要指标,其含量高低与线粒体的磷酸化活性一致. 线粒体结构受损必然导致磷酸化活性降低,ATP 和 EC 均下降. 能量供应不足使细胞加强糖酵解补偿能量供应,导致乳酸累积. 因此,暴露在浓度为 500 $\mu\text{g/L}$ 的镉中,尼罗罗非鱼鳃丝细胞中 EC 降低和 LD 增加是线粒体受损后细胞调整能量代谢的结果. 但 LD 的蓄积将造成细胞酸化而加重线粒体功能紊乱,同时还会抑制 PFK 的活性,使糖酵解受阻^[19]. 镉通过

线粒体途径改变乳酸/丙酮酸以及 ATP/ADP 之比诱导细胞酸化的现象在 小鼠上也有发现^[20]. 糖酵解受阻不仅使在糖酵解途径中作为底物的 ATP 生成受到抑制,还会减少乙酰辅酶 A 的供应而降低供氢体生成,影响氧化磷酸化,致使 ATP 的生成减少,二者互为因果,导致酶的活性持续下降,ATP 的合成亦持续下降,最终造成能量代谢衰竭.

镉污染可以对鱼类尤其是鱼鳃产生不良影响,ATPase 酶的变化将破坏鱼体内的渗透压和离子平衡,影响鱼类正常的生理、生化及代谢过程^[21]. 水环境镉对鳃 ATPase 的毒性受 Cd²⁺ 浓度、水质、试验动物种类和大小以及染毒时间等因素影响^[19]. Terre 等^[21]将鲤鱼鱼种在 Cd²⁺ 浓度为 1 600 $\mu\text{g/L}$ 溶液中染毒 14 d 后,发现鳃 Na⁺-K⁺-ATPase 活性降低了 30% 左右. 贾秀英等^[22]发现,鲫鱼成鱼在 Cd²⁺ 浓度为 1 000 $\mu\text{g/L}$ 溶液染毒 10 h,鳃 Na⁺-K⁺-ATPase 活性约降低 54%. 在本研究中,500 $\mu\text{g/L}$ 组罗非鱼染毒 7 d,鳃 Na⁺-K⁺-ATPase 活性降低了 37% 左右. 鳃 Na⁺-K⁺-ATPase 是水生生物渗透调节的核心,它从水解 ATP 分子中获得能量,逆电化学梯度转运 Na⁺、K⁺,其活性下降将导致血浆中 Na⁺ 浓度和渗透压降低而 K⁺ 浓度升高^[23],但由于镉胁迫作用将导致鱼高血糖^[4],因此,渗透压的变化没有离子组成的变化程度大. Zierold^[24]研究也证实,镉对小鼠肝细胞的损伤作用首先是细胞电解质组成受到影响. 淡水真骨鱼类对 Ca²⁺ 吸收主要是通过鳃完成^[25],鳃中正常的 Ca²⁺-ATPase 活性是其顺利吸收 Ca²⁺ 的前提条件, Ca²⁺-ATPase 活性降低将会降低机体对 Ca²⁺ 的吸收而导致低血钙^[23]. 本研究结果显示血浆 Na⁺, Ca²⁺ 和渗透压同时下降而 K⁺ 浓度增加,这与镉胁迫作用下罗非鱼血浆 Na⁺ 和 Ca²⁺ 浓度下降的结果一致. Na⁺-K⁺-ATPase 和 Ca²⁺-ATPase 同时下降,表明镉对

尼罗罗非鱼血浆离子组成的影响是通过抑制 ATPase 实现的. ATP 的含量改变, 供能活动受到破坏, ATPase 活性会随之变化. 因此可以推测, ATP 含量的降低可能是 ATPase 活性下降的原因之一. 而 Wong 等认为镉对鱼类 Ca^{2+} -ATPase 的抑制作用主要是竞争 Ca^{2+} 结合位点^[26]. 此外, 大量的自由基还可能直接氧化 ATP 酶的氨基酸, 破坏 ATP 酶结构^[27]. 无论何种机制降低 ATPase 活性, 都将降低能量利用能力而降低鳃的离子转运作用, 导致离子流紊乱.

4 结论

(1) 在本试验条件下, 50 $\mu\text{g/L}$ 镉暴露 7 d 后不引起罗非鱼鳃 PFK、EC 和线粒体 SOD、MDA、ATPase 以及血浆渗透压、离子组成变化; 500 $\mu\text{g/L}$ 镉暴露 7 d 显著降低罗非鱼鳃细胞线粒体 SOD 酶活性, 损伤线粒体, ATP 酶活性显著降低, 引发细胞能量生成和利用障碍, 从而损害罗非鱼鳃血浆离子组成调节能力, 导致罗非鱼血浆离子组成紊乱.

(2) 镉通过致鳃细胞线粒体氧化损伤和 ATP 酶活性抑制而干扰能量供应和利用, 导致鳃对血浆渗透压和离子组成调节能力降低是其毒性机理之一.

参考文献:

- [1] Levesque H M, Dorval J, Hontela A, *et al.* Hormonal, morphological, and physiological responses of yellow perch (*Perca flavescens*) to chronic environmental metal exposures[J]. Journal of Toxicology & Environmental Health Part A, 2003, **66** (7): 657 ~ 676.
- [2] Couture P, Kumar P R. Impairment of metabolic capacities in copper and cadmium contaminated wild yellow perch (*Perca flavescens*) [J]. Aquatic Toxicology, 2003, **64**(1): 107 ~ 120.
- [3] Mallatt J. Fish gill structure changes induced by toxicants and other irritants: A statistical reviews [J]. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science, 1985, **42**: 630 ~ 648.
- [4] Almeida J A, Novelli E L B, Silva M D P, *et al.* Environmental cadmium exposure and metabolic responses of the Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* [J]. Environmental Pollution, 2001, **114**: 169 ~ 175.
- [5] 杨先乐, 湛嘉, 胡鲲. 氯霉素在尼罗罗非鱼血浆中的药代动力学研究[J]. 水产学报, 2005, **29**(1): 60 ~ 65.
- [6] 王镜岩, 朱圣庚, 徐长法. 生物化学(下册) [M]. (第三版). 北京: 高等教育出版社, 2001. 42.
- [7] 杜传书. 红细胞磷酸果糖激酶测定及中国人正常值[J]. 中华血液学杂志, 1985, **6**: 237 ~ 239.
- [8] Lowry O H, Rosebrough N J, Farr A L, *et al.* Protein measurement with a Folin phenol reagent [J]. Biological Chemistry, 1951, **193**: 265 ~ 275.
- [9] Flameng W, Borgers M, Daenen W, *et al.* Ultrastructure and cytochemical correlates of myocardial protection by cardiac hypothermia in man [J]. Journal of Thoracic Cardiovascular Surgery, 1980, **79**(3): 413 ~ 424.

- [10] Almeida J A, Diniz Y S, Marques S F G, *et al.* The use of the oxidative stress responses as biomarkers in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) exposed to in vivo cadmium contamination [J]. Environment International, 2002, **27**: 673 ~ 679.
- [11] Tessier A, Couillard Y, Campbell P G C, *et al.* Modeling Cd partitioning in oxic lake sediments and Cd concentrations in the freshwater bivalve *Anodonta grandis* [J]. Limnological Oceanography, 1993, **38**: 1 ~ 17.
- [12] Wright D A, Welbourn P M. Cadmium in the aquatic environment: a review of ecological, physiological and toxicological effects on biota [J]. Environmental Review, 1994, **2**: 187 ~ 214.
- [13] Hoffmann E O, Cook J A, Diluzio N R, *et al.* The effects of acute cadmium administration in the liver and kidney of the rat, light and electron microscopic studies [J]. Lab. Invest., 1975, **31**: 655 ~ 664.
- [14] Toshiaki K, Toshiki Y, Hiroaki S, *et al.* Potential mechanism of cadmium-induced cytotoxicity in rat hepatocytes inhibitory action of cadmium on mitochondrial respiratory activity [J]. Toxicol., 1994, **92**: 115 ~ 125.
- [15] 冯健, 王勇, 刘永坚, 等. 草鱼实验性镉中毒的骨骼病理学研究 [J]. 中山大学学报(自然科学版), 2003, **42**(5): 63 ~ 66.
- [16] Jie L, Maria B, Kadiiska B, *et al.* Acute cadmium exposure induces stress related gene expression in wild and metallothionein- I / II -null mice [J]. Free Radical Biology and Medicine, 2002, **6**: 525 ~ 535.
- [17] Livingstone D R, Garcia M P, Michel X, *et al.* Oxyradical production as a pollution mediated mechanism of toxicity in the common mussel *Mytilus edulis* and other mollusks [J]. Functional Ecology, 1990, **4**: 415 ~ 424.
- [18] Casalino E, Calzavetti G, Sblano C, *et al.* Molecular inhibitory mechanism of antioxidant enzymes in rat liver and kidney by cadmium [J]. Journal of Toxicology, 2002, **179**: 37 ~ 50.
- [19] WHO. Environmental Health Criteria: 134 Cadmium [M]. World Health Organization: Geneva. 1992.
- [20] 马卓, 陈万芳. 镉对小鼠肝线粒体膜流动性及呼吸活性的影响 [J]. 中国兽医学报, 1996, **16**(6): 585 ~ 590.
- [21] Terre F R, Salibia A A, Ferraric L. Biomarkers assessment in juvenile *Cyprinus carpio* to waterborne cadmium [J]. Environmental Pollution, 2000, **109**: 277 ~ 282.
- [22] 贾秀英, 陈志伟. 铜, 镉对鲫鱼组织 Na^{+} - K^{+} -ATPase 活性的影响 [J]. 科技通报, 2003, **19**(1): 50 ~ 53.
- [23] Marsigliante S, Muscella A, Vilella S, *et al.* Dexamethasone modulates the activity of the eel branchial $\text{Na}^{+}/\text{K}^{+}$ ATPase in both chloride and pavement cells [J]. Life Science, 2000, **66**(18): 1663 ~ 1673.
- [24] Zierold K. Effects of cadmium on electrolyte ions in cultured rat hepatocytes studied by X-Ray microanalysis of cryosections [J]. Toxicology and Applied Pharmacology, 1997, **144**: 70 ~ 76.
- [25] Perry S F, Goss G G, Fenwick J C. The interrelationships between gill chloride cell morphology and calcium uptake in freshwater teleosts [J]. Fish Physiology and Biochemistry, 1992, **10**: 327 ~ 337.
- [26] Wong C K C, Chan D K O. Isolation of variable cell types from the gill epithelium of Japanese eel *Anguilla japonica* [J]. American Journal of Physiology, 1999, **276**: 363 ~ 372.
- [27] Siraj B P, Usha R A. Cadmium induced antioxidant defense mechanism in freshwater teleost *Oreochromis mossambicus* (tilapia) [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2003, **56**: 218 ~ 221.