

铜对中华鲟幼鱼的急性毒性及对肝脏抗氧化酶活性的影响

姚志峰^{1,2}, 章龙珍^{1,2}, 庄平^{1,2}, 黄晓荣^{1,2}, 颜世伟³

(1. 中国水产科学研究院 东海水产研究所, 农业部海洋与河口渔业资源及生态重点开放实验室, 上海 200090; 2. 上海海洋大学 水产与生命学院, 上海 201306; 3. 大连水产学院 生命科学与技术学院, 辽宁 大连 116023)

摘要: 采用静水生物测试法研究铜(Cu^{2+})对中华鲟(*Acipenser sinensis* Gray)幼鱼的急性毒性并进行安全评价; 根据预实验结果, 设定0.005 mg/L、0.01 mg/L和0.015 mg/L 3个 Cu^{2+} 浓度梯度进行急性暴露实验, 以肝脏组织超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)和谷胱甘肽抗氧化酶(GSH-PX)活性为指标研究 Cu^{2+} 污染对中华鲟幼鱼的毒理作用。结果表明, Cu^{2+} 浓度升高对中华鲟幼鱼产生了较大的毒性, 24 h、48 h、72 h和96 h LC_{50} 分别为0.059 32 mg/L、0.034 0 mg/L、0.028 3 mg/L和0.021 7 mg/L, 安全质量浓度为0.002 17 mg/L; 不同浓度 Cu^{2+} 暴露时, 中华鲟幼鱼肝组织中SOD、CAT、GSH-PX的活性在暴露24 h时被显著抑制($P < 0.05$), 在处理48 h后酶活性逐渐恢复, 随后又逐渐下降, 其下降幅度与 Cu^{2+} 质量浓度呈正相关($P < 0.05$)。研究认为, SOD、CAT和GSH-PX活性变化可以反映中华鲟幼鱼受伤害的程度, 并可用作中华鲟安全性风险评价的参考依据。[中国水产科学, 2010, 17(4): 731–738]

关键词: 中华鲟幼鱼; 铜; 安全浓度; 肝脏; 抗氧化酶

中图分类号: S94

文献标识码: A

文章编号: 1005-8737-(2010)04-0731-08

自20世纪50年代以来, 随着工农业的发展, 各种化学类制品大量使用, 向环境中排放的污染物与日俱增, 严重污染了环境, 包括对水环境的污染, 其中以重金属污染尤为严重。在各种重金属中, Cu作为化工业中大量使用的原材料被广泛应用, 其各种废水、废渣等的不合理排放, 严重污染水环境, 对生活在其中的水生动物包括鱼类构成严重威胁。根据对中国七大水系中水质状况较好的长江水环境调查结果, 发现其近岸水域已受到不同程度的重金属污染, 其中Cu、Zn、Pb等元素污染严重^[1-2]。

中华鲟(*Acipenser sinensis* Gray)隶属于鲟形目、鲟科、鲟属, 属软骨硬鳞类, 为洄游性鱼类, 是中国一级保护动物, 主要分布在中国近海及长江、珠江、岷江、黄河等水域, 黄河、岷江的中华鲟均已绝迹, 珠

江数量极少, 仅长江现有一定数量^[3]。目前, 对中华鲟的繁殖、驯养、生长、营养等方面已进行了相关研究^[4-5], 但有关重金属等对中华鲟的毒性作用研究报道较少^[6-7]。本研究采用静水生物测试法研究了铜对中华鲟幼鱼的急性毒性, 同时测定了急性暴露后中华鲟幼鱼肝脏中几种抗氧化酶活性的变化, 目的在于了解 Cu^{2+} 对中华鲟幼鱼的安全浓度并初步探讨铜离子对鱼类的致毒机理, 针对长江水体对中华鲟的安全性进行风险评价, 同时为渔业部门制订水质标准提供理论参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料

实验材料为人工养殖的中华鲟幼鱼, 体质量

收稿日期: 2009-10-13; 修订日期: 2009-11-11.

基金项目: 国家自然科学基金重大项目(30490234); 上海市科委研究计划项目(08391910300); 科技部科技基础工作和社会公益研究专项(2003DIB4J129); 上海市长江口中华鲟自然保护区专项资助项目; 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金项目(2007M023; 2008M01).

作者简介: 姚志峰(1982-), 男, 硕士研究生, 主要从事鱼类生理生态研究. E-mail: yaozhifeng31@163.com

通讯作者: 章龙珍, 研究员, 水生动物生殖生物学. E-mail: longzhen2885@hotmail.com

(41.5 ± 4.0) g, 体长 (22.7 ± 3.5) cm, 选取体质健壮、反应灵敏的个体进行实验, 实验前1 d停止投喂。

1.2 实验条件

实验所用硫酸铜($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)为分析纯(上海国药集团)。实验之前先配制成 Cu^{2+} 质量浓度为1 000 mg/L的母液, 预实验及正式实验时稀释为相应的质量浓度。实验在80 cm×58 cm×60 cm的聚乙烯塑料水族箱中进行, 实验用水为经曝气3 d的净化水。实验期间每天采用便携式多参数水质分析仪(YSI-ADV6600)监测水质, 水质指标: pH 7.0左右, $\text{DO} \geq 7.0$ mg/L, 水温(20 ± 1) °C, 硬度(30 ± 5) mg/L。实验期间全天持续充氧, 为防止摄食的影响, 实验期间不投喂饵料。

1.3 实验方法

根据静水生物测试法^[8], 实验期间不更换实验液, 为确定药液质量浓度的大致范围, 先进行预实验, 设定0.012 5 mg/L、0.025 mg/L、0.050 mg/L、0.11 mg/L和0.50 mg/L, 每浓度放4尾中华鲟幼鱼, 观察24 h, 计算不引起死亡的 Cu^{2+} 最大浓度和100%致死质量浓度。正式实验在最大耐受质量浓度和100%致死质量浓度之间按等对数等比级数设置对照组和7个质量浓度组, 铜离子浓度分别为: 0 mg/L、0.012 mg/L、0.018 mg/L、0.025 mg/L、0.036 mg/L、0.057 mg/L、0.086 mg/L和0.11 mg/L。每个浓度设2个平行组, 另设一对照组, 每组浓度中投放中华鲟6尾, 在实验中观察其行为和中毒症状。中毒后, 经多次刺激无反应则判断为死亡, 将死亡中华鲟从水中捞出并记录死亡数。

根据 LC_{50} 设计实验质量浓度梯度为0 mg/L、0.005 mg/L、0.01 mg/L和0.015 mg/L, 同时设计1个平行组, 每实验水族箱放中华鲟14尾。实验期间不投饵, 保持全天持续充氧。在暴露后24 h、48 h、72 h和96 h时, 每个处理组分别取3尾鱼, 迅速解剖取出肝脏组织, 放入5 mL塑料离心管中, 置-20 °C冰箱保存, 测定24 h、48 h、72 h和96 h不同浓度处理组中华鲟幼鱼肝脏的SOD、CAT和GSH-PX活性。

1.4 组织匀浆的制备及酶活性的测定

用预冷的生理盐水漂洗去血液, 剪去肝脏表面

附着的结缔组织, 再用滤纸吸去表面水分, 称取适量的样品, 按质量: 体积=1: 10加入4 °C预冷的生理盐水, 在冰浴条件下, 用超声波进行匀浆。匀浆液用冷冻离心机在4 000 r/min下离心10 min, 取上清液备用。

样品上清液中蛋白含量的测定采用考马斯亮蓝比色法, SOD测定采用黄嘌呤氧化法改进的方法—羟胺法, CAT测定采用一般分光光度法, GSH-PX测定采用5,5'-二硫代硝基苯甲酸(DTNB)比色法, 试剂均购自南京建成生物工程研究所, 操作按试剂盒说明进行。SOD活性单位定义为每毫克组织蛋白在1 mL反应液中, SOD抑制率达到50%时所对应的SOD量为1个活性单位(U); GSH-PX活性单位定义为每毫克组织蛋白, 每分钟扣除非酶反应的作用, 使反应体系中GSH浓度降低1 $\mu\text{mol/L}$ 为1个酶活性单位(U); CAT酶活性单位定义为每毫克组织蛋白每秒分解浓度降低1 μmol 的 H_2O_2 的量为1个活性单位(U)。

1.5 数据处理

采用寇氏法(Karber)^[9]计算出24 h、48 h、72 h和96 h的 LC_{50} 以及 $\lg\text{LC}_{50}$ 的95%可信限, 将死亡率转化成概率单位, 试验液质量浓度转换成浓度对数, 求出死亡率概率单位与试验液质量浓度对数的回归方程, 安全浓度= $96\text{ h LC}_{50} \times 0.1$; SOD、CAT和GSH-PX活性分别测定3次, 再将3次重复实验的实验数据的平均值进行 t 检验, 分析各浓度处理组与对照组的差异显著性。

2 结果与分析

2.1 中华鲟幼鱼的中毒症状

中华鲟幼鱼在不同质量浓度的 Cu^{2+} 中表现出不同程度的中毒症状, 在最高浓度组, 中华鲟幼鱼在暴露4~6 h后开始出现异常现象, 首先表现为失去平衡游泳的能力, 鳃盖煽动频率加快, 少数个体在水中侧翻, 并会出现打转、急速游动或上下乱窜, 随后, 身体僵直, 抽搐, 沉入水底, 5~10 s后恢复运动能力, 背部颜色慢慢加深, 鳃及体表分泌出大量黏液, 鳃肿

胀,颜色变暗,鳃丝上附有淡蓝色絮状物。持续数小时后游动变得缓慢,头朝下,尾巴向上翘,鳃盖煽动频率变慢,逐渐丧失运动能力,吻部和腹部充血,肛门出现红肿,最后躺卧缸底,解剖死亡后的中华鲟幼鱼,发现肝脏肿大、色泽发白,胆囊肿大、胆汁充盈,肾脏充血、色泽变暗;在低浓度组,受试的幼鱼在暴露50~58 h后出现中毒症状,一旦中毒,亦表现出同样症状。

2.2 Cu²⁺对中华鲟幼鱼的急性毒性

不同浓度Cu²⁺暴露不同时间后,中华鲟幼鱼的死亡情况见表1。0.11 mg/L组24 h内全部死亡;0.076 mg/L组72 h内全部死亡;0.053 mg/L组96 h全部死亡;0.0360 mg/L组24 h开始出现死亡,0.017 3 mg/L和0.012 mg/L组72 h出现死亡。

以Karber方程对实验结果进行统计处理,得出

试验液浓度对数与死亡率概率单位的线性回归方程,求出24 h、48 h、72 h和96 h的LC₅₀值及95%置信区间。再用经验公式96 h LC₅₀×0.1计算出安全浓度为0.002 17 mg/L,其结果见表2。

2.3 Cu²⁺对中华鲟幼鱼肝脏SOD、CAT和GSH-PX酶活性的影响

在不同Cu²⁺溶液暴露24 h后,与对照组酶活性(633.85±5.37)U相比,中华鲟肝组织SOD活性显著下降,分别下降到(599.28±7.03)U、(560.45±6.28)U和(505.95±9.71)U,其下降程度与Cu²⁺处理浓度呈正相关($R^2=0.988\ 3$)。暴露48 h后,低浓度组(0.005 mg/L)肝组织SOD活性逐渐恢复,上升到(667.30±6.34)U,超过对照组活性,随后又逐渐下降,其他实验组一直呈现下降趋势,而且这种作用随着鱼暴露时间延长和Cu²⁺浓度升高而增强的趋势(图1)。

表1 不同浓度Cu²⁺暴露不同时间对中华鲟幼鱼的死亡率
Tab. 1 Acute toxicity of Cu²⁺ to juvenile Chinese sturgeon %

质量浓度/(mg·L ⁻¹) Concentration	暴露时间/h Exposure time			
	24	48	72	96
0.0120	0	0	5.56	16.7
0.0173	0	0	11.1	33.3
0.0250	0	27.8	44.4	61.1
0.0360	11.1	50.0	72.2	83.3
0.0530	27.4	61.1	83.3	100
0.0760	50.0	77.8	100	—
0.1100	100	—	—	—
0.0000	0	0	0	0

注:“—”代表此处理组幼鱼已全部死亡。
Note:“—” denotes all juvenile were died.

表2 Cu²⁺对中华鲟幼鱼毒性的线性回归分析
Tab. 2 Linear regression analysis of Cu²⁺ toxicity on juvenile Chinese sturgeon

暴露时间/h Exposure time	回归方程 Regression equation	相关系数 R^2	LC ₅₀ /(mg·L ⁻¹)	95% 置信区间/(mg·L ⁻¹) 95% confidence interval	安全质量浓度/(mg·L ⁻¹) Safe concentration
24	$y=6.948x+13.615$	0.928	0.0606	0.0489~0.0759	0.00217
48	$y=2.673x+8.754$	0.981	0.0414	0.0315~0.0545	
72	$y=3.767x+11.099$	0.950	0.0289	0.0224~0.0372	
96	$y=5.512x+14.260$	0.964	0.0217	0.0168~0.0280	

注:y:死亡率概率单位;x:Cu²⁺浓度对数。
Note:“y” signifies probit of mortality;“x” signifies logarithm of copper ion concentration.

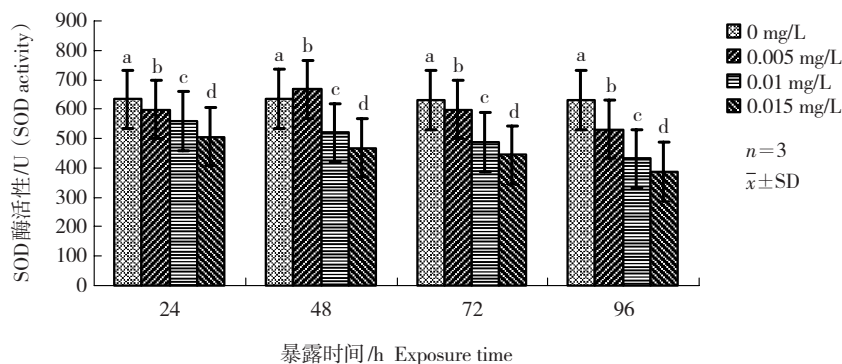


图1 中华鲟肝组织SOD活性随处理时间的变化

图中同一暴露时间下不同字母表示与对照组差异显著 ($P < 0.05$)。

Fig. 1 Changes of SOD activity with exposure time in liver tissue of Chinese sturgeon
Under the same exposure time, different letters mean significant difference with control ($P < 0.05$).

中华鲟幼鱼在 Cu^{2+} 的水体中处理24 h时,肝组织中CAT活性随着在 Cu^{2+} 浓度的增加均显著下降,分别下降到 $(553.67 \pm 4.29) \text{ U}$ 、 $(513.15 \pm 5.08) \text{ U}$ 和 $(471.50 \pm 5.36) \text{ U}$,其下降程度随 Cu^{2+} 浓度呈正相关性($R^2 = 0.9999$) (图2)。处理48 h时,CAT酶

活有恢复的趋势,0.005 mg/L组中CAT活性上升到 $(648.00 \pm 8.32) \text{ U}$,超过对照组,0.01 mg/L与对照组没有显著差异($P > 0.05$),0.015 mg/L组中CAT活性显著下降($P > 0.05$),96 h后各浓度组CAT活性均低于对照组。

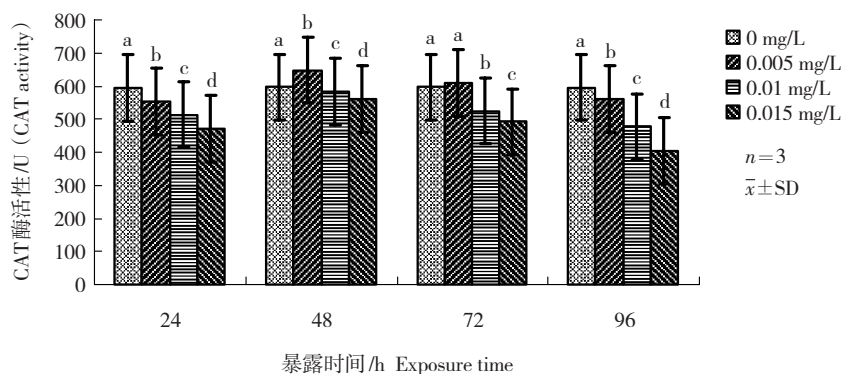


图2 中华鲟肝组织CAT活性随处理时间的变化

图中同一暴露时间下不同字母表示与对照组差异显著 ($P < 0.05$)。

Fig. 2 Changes of CAT activities with exposure time in liver tissue of Chinese sturgeon
Under the same exposure time, different letters mean significant difference with control ($P < 0.05$).

在 Cu^{2+} 污染的环境中,中华鲟肝脏组织GSH-PX活性在处理24 h时显著下降,其下降程度与 Cu^{2+} 浓度呈正相关($R^2 = 0.9929$),详见图3。48 h时,0.005 mg/L组酶活力为 $(0.70 \pm 0.058) \text{ U}$,显著高于对照组($P < 0.05$),0.01 mg/L组为 $(0.63 \pm 0.048) \text{ U}$,显著下降($P < 0.05$),0.015 mg/L为 $(0.66 \pm 0.065) \text{ U}$,与对照组没有显著差异($P > 0.05$),72 h后各实验组显著下降($P < 0.05$)。

3 讨论

3.1 中华鲟幼鱼的中毒症状

中华鲟幼鱼 Cu^{2+} 中毒后,体表和鳃的黏液增多,鳃上附有淡蓝色的絮状物,在水中翻转、冲撞、呼吸困难,严重的窒息死亡,表明铜可能损伤了中华鲟幼鱼的鳃导致鱼体缺氧,神经系统受损。这与其他

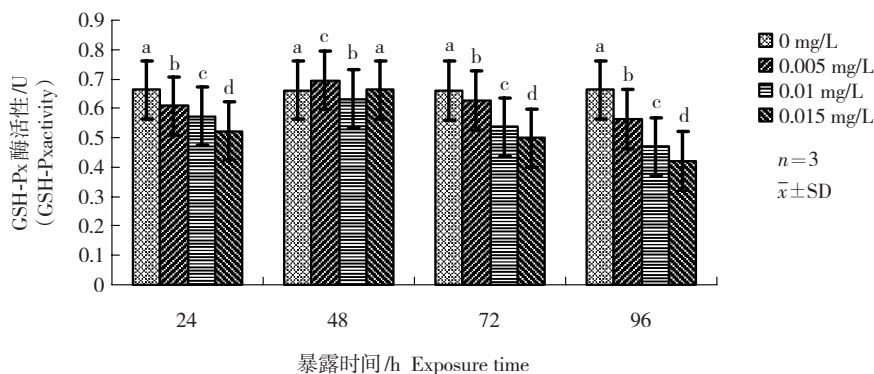


图3 中华鲟肝组织GSH-PX活性随处理时间的变化
图中同一暴露时间下不同字母表示与对照组差异显著 ($P < 0.05$)。

Fig. 3 Changes of GSH-PX activity with exposure time in liver tissue of Chinese sturgeon
Under the same exposure time, different letters mean significant difference with control ($P < 0.05$).

学者观察到的鱼类急性重金属中毒症状相似^[10-12]。实验结束后,将存活中华鲟幼鱼移入清水中继续饲养,饲养10 d后发现50%左右死亡。可见铜暴露后的中华鲟幼鱼虽然部分能够存活,但大部分已受到 Cu^{2+} 的毒害作用,生理功能无法恢复,导致后期死亡,这与鳊^[13]、鲫鱼^[14]重金属中毒结果基本一致。重金属离子进入鱼体组织后,一部分可随着血液循环到达各组织器官,引起组织细胞的机能变化;另一部分则可与血浆中的蛋白和红血球等结合,或者与酶结合,造成酶失活,当重金属在体内积累到一定程度后,引起中毒^[15-16]。

3.2 Cu^{2+} 对中华鲟幼鱼的致死效应及安全浓度评价

铜是生命活动所必需的微量元素,是构成酶的活性基团或是酶的组成成分,也是水环境中污染较为严重的重金属之一,当生物体中铜的浓度超过其生物生态阈值时,会引起中毒,导致肝溶酶体膜磷脂发生氧化反应、溶酶体膜破裂,水解酶大量释放,从而引起肝组织坏死^[17]。铜对鱼类的急性毒性效应已有研究^[17-18]。研究表明环境因子影响 Cu^{2+} 对生物体的毒性,如水的硬度高低对铜离子的毒性有明显影响,水中钙离子含量对铜离子毒性有拮抗作用,水中钙含量高,鱼体钙含量也高,鳃细胞渗透性减少,从而减少了重金属吸收进入体内^[13-14]。 Cu^{2+} 质量浓度0.11 mg/L,24 h内中华鲟幼鱼出现死亡,从中等浓度0.036 mg/L以上,至0.076 0 mg/L,24 h内中华鲟幼鱼

出现死亡,0.025 mg/L时48 h出现死亡,0.017 3 mg/L时72 h出现死亡,0.012 mg/L时96 h出现死亡,表明重金属对鱼类的毒害作用主要是在鱼体内富集,重金属的量积累到一定的程度之后,大剂量的重金属离子抑制正常的生理生态过程^[19-20]。

有毒物质对鱼类的毒性作用可根据鱼类急性中毒试验的96 h LC_{50} 分为4级(表3)^[21],中国渔业水质标准^[22]对铜的最高容许质量浓度为0.01 mg/L。本实验所得铜对中华鲟幼鱼的安全浓度为0.002 17 mg/L,远低于中国渔业水质标准,可见中华鲟幼鱼对铜的耐受性较低,中国的渔业水质标准是否可以作为保护中华鲟的安全浓度值有待考虑。陈家长等^[2]对长江下游安庆、南京、镇江和长江口4个江段水质污染状况的监测结果表明,在南京与长江口江段的重金属铜污染物超标,超标倍数分别为1.5倍和0.4倍,沿江的其他江段也可能有其他污染带存在。这表明中华鲟自然繁殖幼苗以及人工繁殖放流幼鱼降河洄游到长江口的过程中,可能面对这些污染物的威胁,此状况应引起有关部门注意,对长江沿岸的污染源应该加强管理,为中华鲟等水生生物资源提供良好的生存环境。

硫酸铜通常用来毒杀鱼体上寄生的原生动物等,常用质量浓度为0.7 ~ 0.8 mg/L(单独使用或与硫酸亚铁混合作用)。本实验 Cu^{2+} 对中华鲟幼鱼的安全浓度为0.002 17 mg/L,折算成硫酸铜为

表3 有毒物质对鱼类的毒性标准^[21]
Tab. 3 Toxicity criteria of toxic substances on fish^[21]

项目 Item	等级 Class			
	剧毒 Extreme	高毒 High	中毒 Middle	低毒 Low
$\rho^*/(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	<0.1	0.1-1	1-10	>10.0

*此质量浓度为96 h的LC₅₀值。
*The mass concentration of the LC₅₀ value of 96 h.

0.008 53 mg/L, 因此上述常用的杀毒浓度远高于Cu²⁺对中华鲟幼鱼的安全浓度, 可能会造成对中华鲟的危害, 因此, 对中华鲟来说应尽量避免使用硫酸铜。

本实验仅以重金属的总投入量为依据, 只考虑了单一重金属对中华鲟幼鱼的毒性, 但在江河中存在多种重金属, 可能存在某种协同或拮抗作用^[23-24], 另外, 金属预处理也能缓解重金属毒性^[25-27], 此外, 盐度、温度、溶氧、pH值^[28]等理化因子的改变对重金属的毒性也可能产生影响, 因此多种环境因子与重金属的联合毒性作用需要进一步探讨。

3.3 Cu²⁺对中华鲟幼鱼肝脏抗氧化酶活性的影响

机体中的抗氧化酶系统在维持氧自由基代谢平衡方面起着十分重要的作用^[29], SOD、CAT、GSH-PX是脊椎动物体内抗氧化酶的重要组分。在正常生理情况下, 机体内的抗氧化酶系统能有效地清除体内的超氧阴离子自由基(O₂⁻)、单线态氧(¹O₂)、羟自由基(-OH)和H₂O₂等活性氧物质, 保护动物免受自由基伤害^[30]。但在机体受到重金属作用时会异常产生过量的活性氧, 超出了机体清除活性氧的能力, 这些活性氧可攻击各种生物大分子, 引发生物膜中的不饱和脂肪酸发生脂质过氧化, 而对细胞和机体产生毒害作用^[31]。当中华鲟幼鱼处于CuSO₄污染环境中, Cu²⁺进入中华鲟体内后, 其肝脏组织中SOD、CAT、GSH-PX活性受到显著抑制, 其抑制程度与Cu²⁺的质量浓度和暴露时间呈正相关, 当机体由于Cu²⁺致自由基产生过多或机体抗氧化系统受到损伤, 就会造成自由基大量堆积, 从而引发组织细胞的脂质过氧化损伤, 影响鱼体内的抗氧化系统而引起鱼类中毒^[31], 引发各种病理生理过程^[32]。

SOD清除O₂⁻的能力与其含量和活性有关, 许多研究表明, 当生物体受到轻度逆境胁迫时, SOD活性往往升高; 而当受到重度逆境胁迫时, SOD活性通常降低, 使生物体内积累过量的活性氧, 从而导致生物体受到伤害^[33-34]。本实验结果同样发现, 低浓度铜胁迫下, 中华鲟幼鱼肝组织内的SOD活性显著升高, 这种现象与Beaumont等^[35]的研究结果类似, Stebbing^[36]认为, 毒物在低浓度下出现的这种现象, 是其在无毒情况下的应激反应, 他把这一现象称为“毒物兴奋效应”。到目前为止, 许多研究证明, “毒物兴奋效应”具有普遍性; 高浓度Cu²⁺胁迫下, 中华鲟幼鱼肝组织内的SOD活性极显著性下降, 因此, Cu²⁺胁迫下SOD活性的降低, 造成中华鲟幼鱼的活性氧伤害很可能是Cu²⁺对中华鲟幼鱼形成毒害的重要原因之一。同样, CAT、GSH-PX对中华鲟伤害程度也很灵敏, 在CuSO₄处理24 h时活性急剧下降, CAT、GSH-PX在24 ~ 48 h有回升趋势, 随后又显著下降, 说明了随着处理时间的延长, 中华鲟所受的伤害逐渐加剧。

本研究发现, 当中华鲟处于0.005 mg/L Cu²⁺时, 虽然不会死亡, 但体内保护酶活性随处理时间延长出现了一系列变化, 首先被抑制, 然后逐渐恢复并超过对照组活性, 以后又回落, 且变化幅度与处理液中CuSO₄质量浓度呈正相关, 由此可以证实, 抗氧化酶SOD、CAT和GSH-PX活性的变化情况可以反应中华鲟幼鱼受损伤的程度。SOD、CAT和GSH-PX作为内源活性氧清除剂, 在Cu²⁺的胁迫下, 能清除体内过量的活性氧, 维持活性氧代谢平衡, 保护膜结构, 从而使动物在一定程度上缓解或抵抗环境胁迫, 但这种维持作用有一定的浓度范围, 随着污染物浓度的

增加,抗氧化酶活性受到抑制,由此造成活性氧的积累和对细胞膜的损伤,降低生物的适应性,最后导致死亡。

参考文献:

- [1] 国家环境保护总局. 2000 年环境状况公报[Z]. 北京: 国家环境保护总局, 2001.
- [2] 陈家长, 孙正中, 瞿建宏, 等. 长江下游重点江段水质污染及对鱼类的毒性影响[J]. 水生生物学报, 2002, 26(6): 635-640.
- [3] 程金成, 高健, 刘建. 中华鲟资源现状及其保护对策探讨[J]. 渔业现代化, 2005(3): 3-4.
- [4] 陈喜斌, 庄平, 曾翠平, 等. 中华鲟幼鲟蛋白质营养最适需要量[J]. 中国水产科学, 2002, 9(1): 60-64.
- [5] Qian X, Cui Y, Xie S, et al. Individual variations in growth, food intake and activity in juvenile Chinese sturgeon *Acipenser sinensis* Gray [J]. J Appl Ichthyol, 2002, 18(4): 695-698.
- [6] 姜礼燾. 环境污染对中华鲟影响的研究[J]. 现代渔业信息, 1996, 11(7): 1-7.
- [7] 杜浩, 危起伟, 刘鉴毅, 等. 苯酚、 Cu^{2+} 、亚硝酸盐和总氮氮对中华鲟稚鱼的急性毒性[J]. 大连水产学院学报, 2007, 22(2): 118-122.
- [8] 吴邦灿, 费龙. 现代环境监测技术[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 1999: 252-254.
- [9] 明道绪. 兽医统计方法[M]. 成都: 成都科技大学出版社, 1991: 200-203.
- [10] 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: 192-228.
- [11] 瞿建国. 锌对金鱼的急性毒性及在体内的积累和分布[J]. 上海环境科学, 1996, 15(6): 42-43.
- [12] 陈锡涛. 镉对花鲢 *Aristichthys nobilis* 幼鱼, 鱼苗和鱼种的急性毒性及其安全浓度的评价[J]. 环境科学与技术, 1991(4): 5-8.
- [13] 黄玉瑶, 陈锦萍. 铜离子对鳊鲴幼鱼的急性毒性[J]. 中国环境科学, 1992, 12(4): 255-260.
- [14] 杨丽华, 方展强, 郑文彪. 重金属对鲫鱼的急性毒性及安全浓度评价[J]. 华南师范大学学报, 2003(2): 101-106.
- [15] 蓝伟光, 杨孙楷. 海水污染物对对虾毒性研究的进展[J]. 福建水产, 1990(1): 41-45.
- [16] 王瑞龙, 马广智, 方展强, 等. 铜、镉、锌对唐鱼的急性毒性及安全浓度评价[J]. 中国水产科学, 2006, 25(3): 117-119.
- [17] 戴家银, 郑微云, 王淑红. 重金属和有机磷农药对真鲷和平鲷幼体的联合毒性研究[J]. 环境科学, 1997, 9: 44-49.
- [18] 杨玻莉, 郑微云, 陈明达, 等. 重金属对真鲷幼鱼和黑鲷幼鱼的毒性效应[J]. 厦门大学学报: 自然科学版, 1994, 33(增刊): 28-31.
- [19] Mark Macnair. Tansley Review No. 49: The Genetics of Metal Tolerance in Vascular Plants [C]. New Phytophysio, 1993, 124: 541-559.
- [20] Cumming J R, Tomsett A B. Metal tolerance in plants: signal trailsduction and accumulation mechanisms[M]. In: Adriano D. D (ed.) Biogeochemistry of trace metals. Boca Raton: Lewis Publishers, 1992: 329-364.
- [21] 张志杰, 张维平. 环境污染生物监测与评价[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 1991: 69.
- [22] 邱郁春. 水污染鱼类毒性实验方法[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 1992: 171-172.
- [23] TORT L, TORRES P, FLOS R. The toxicity to *Clarias lazera* of copper and applied jointly [J]. Comp Biochem Physiol C, 1987, 87(2): 309-314.
- [24] 修瑞琴, 许永香, 高世荣, 等. 砷与镉、锌离子对斑马鱼的联合毒性实验[J]. 中国环境科学, 1998, 18(4): 349-352.
- [25] GILL T S, EPPLA A. Impact of cadmium on the mummichog *Fundulus heteroclitus* and the role of calcium in suppressing heavy metal toxicity [J]. Biochem Physiol C, 1992, 101(3): 519-523.
- [26] DUTTA T K, KAVIRA J A. Acute toxicity of cadmium to fish *Labeo rohita* and *Copod Diaptomus forbesi* pre-exposed to CaO and KMnO_4 [J]. Chemosphere, 2001, 42(8): 955-958.
- [27] WOODALL C, MACLEAN N, CROSSLLEY F. Responses of trout fry (*Salmo gairdneri*) and *Xenopus laevis* tadpoles to cadmium and zinc [J]. Comp Biochem Physiol C, 1988, 89(1): 93-99.
- [28] HUTCHINSON N J, SPRAGUR J B. Lethality of trace metal mixtures to American flagfish in neutralized acid water [J]. Arch Environ Contam Toxicol, 1989, 18(1-2): 249-254.
- [29] Palacea V P, Brown S B, Baron C I, et al. An evaluation of the relationships among oxidative stress, antioxidant vitamins and early mortality syndrome (EMS) of lake trout (*Salvelinus namaycush*) from Lake Ontario [J]. Aquatic Toxicology, 1998, 43: 259-268.
- [30] 鲁双庆, 刘少军, 刘红玉, 等. Cu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.
- [31] Rainbow P S. Trace metal concentrations in aquatic invertebrates: why and so what? [J]. Env Pollut, 2002, 120: 497-507.
- [32] 李莲姬, 韩春姬, 崔山田, 等. 锌、硒对铅致小鼠脂质过氧化的保护作用[J]. 延边大学医学学报, 1997, 4(20): 211-213.
- [33] 唐学玺, 张培玉. 葱对黑鳃超氧化物歧化酶活性的影响[J]. 水产学报, 2000, 24(3): 217-220.

- [34] 金明红,冯宗炜. 臭氧对冬小麦叶片膜保护系统的影响[J]. 环境科学,2000,20(3): 444-447.
- [35] Beaumont A R, Newman P B. Low levels of tributyltin reduce growth of marine microalgae [J]. Mar Pollut Bull, 1986, 17 (10): 457-461.
- [36] Stebbing A R D. Hormesis the stimulation of growth by low levels of inhibitions [J]. Sci Tot Envir, 1982, 22 (1): 213-234

Effects of antioxidant enzyme in liver and acute toxicity of Cu^{2+} on juvenile Chinese sturgeon

YAO Zhifeng^{1,2}, ZHANG Longzhen^{1,2}, ZHUANG Ping¹, HUANG Xiaorong^{1,2}, YAN Shiwei³

(1. Key and Open Ecological Laboratory of Marine and Estuary, Ministry of Agriculture of China, East China Sea fisheries research institute, Chinese academy of fishery sciences, Shanghai 200090, China; 2. College of fisheries and life, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 3. Faculty of Life Science and Technology, Dalian Fisheries University, Dalian 116023, China)

Abstract: The acute toxicity of Cu^{2+} and the changes of antioxidant enzyme of Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis* Gray) were studied by the static test method. According to this LC_{50} , the experiment concentrations of CuSO_4 were set up at 0, 0.005 mg/L, 0.01 mg/L and 0.015 mg/L and the exposure time were set up at 24 h, 48 h, 72 h and 96 h. The results showed that copper was a drastic toxicant; the 24 h, 48 h, 72 h and 96 h median lethal concentrations of copper were 0.0593 2 mg/L, 0.034 0 mg/L, 0.028 3 mg/L and 0.021 7 mg/L respectively, the safe concentration of these metal was 0.002 17 mg/L. The activities of SOD, CAT and GSH-PX in the liver tissues of Chinese Sturgeon were restrained obviously within 24 h, but the activities recovered gradually from 24 to 48 h, the activities decreased after 48 h, and it was lower than that of the control group. The changes of the activities of SOD, CAT and GSH-PX indicated the damage degree of Chinese Sturgeon by Cu^{2+} . [Journal of Fishery Sciences of China, 2010, 17 (4): 731-738]

Key words: Chinese sturgeon; juvenile copper; safe concentration; liver; antioxidant enzyme

Corresponding author: ZHANG Longzhen. E-mail: longzhen2885@hotmail.com