

文章编号:1005-8737(2001)01-0023-03

## 低 pH 对草鱼鳃和肝组织 超氧化物歧化酶(SOD)活性的影响

马广智,唐 玫,徐 军

(华南师范大学 生物系,广东 广州 510631)

**摘 要:**在实验室条件下,把草鱼置于低 pH(6.0, 5.5, 4.5)水中 4 d 和 7 d, 测试鳃和肝组织 SOD 活性的变化。结果表明,在实验的第 4 天,低 pH 引起肝组织 SOD 活性升高,而对鳃组织 SOD 活性无显著影响;在第 7 天,低 pH 引起肝组织 SOD 活性显著降低,而鳃组织在 pH 6.0 和 pH 5.5 时 SOD 活性升高,在 pH 4.5 时 SOD 活性下降。提高水中钙浓度,可减缓 pH 4.5 实验组(第 7 天)鳃和肝组织 SOD 活性的降低。

**关键词:**草鱼;鳃;肝;pH;SOD;酶活性

**中图分类号:**S94, X171.5

**文献标识码:**A

目前酸雨问题日益严重,导致许多水体酸化和大量鱼类资源的丧失<sup>[1-3]</sup>,当水体 pH 6.0 以下时就能检测到淡水酸化的生物学效应<sup>[4]</sup>;pH 5.0 左右时,大多数鱼类严重受害并趋于灭绝。低 pH 对鱼类胚胎发育、耗氧代谢和血液酸碱平衡的影响陆续已有报道<sup>[5-8]</sup>,但低 pH 对鱼类的 SOD 活性的影响尚未见报道。SOD 是机体防御过氧化损害系统的关键酶之一,是一类敏感的分子生态毒理学指标<sup>[9]</sup>。本文首次报道我国四大家鱼之一的草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)鳃和肝组织 SOD 正常值以及不同低 pH 水平对其影响,并且比较了软水和硬水环境下低 pH 对 SOD 活性的影响。

### 1 材料和方法

#### 1.1 材料

实验草鱼种体质健壮,全长(7.40±0.30)cm,体重(5.49±1.09)g,购自广州市郊鱼苗场,在室内驯养 4 d 后进行实验。

收稿日期:2000-08-18

基金项目:广东省自然科学基金资助项目(940421)

作者简介:马广智(1959-),男,华南师范大学副教授、博士,从事动物学研究。

#### 1.2 实验用水

本实验分别使用 2 种硬度的水,一种是充分曝气的自来水,硬度为 2.4 度(德国度),pH 6.8;另一种是将上述自来水用 CaCl<sub>2</sub> 调制成硬度为 16 度。总硬度和 Ca<sup>2+</sup> 以 EDTA 滴定法测定。

低 pH 水的配制过程是用硫酸(AR)配成 pH 6.0、5.5 和 4.5,配制时进行充分搅拌,曝气,使水质均匀且使 CO<sub>2</sub> 的含量降到最低限度。在实验过程中,定时对各试验组水中的 pH 用酸度计测定并作相应的调节。每天更换新鲜实验用水。

#### 1.3 实验分组和低 pH 处理

实验分 4 个 pH 梯度,即 pH 6.8(对照组)、pH 6.0、pH 5.5、pH 4.5;每个梯度又分成软水和硬水组,共 8 个组,每组 30 尾鱼。每组实验在 60 cm×35 cm×40 cm 的方缸中进行,采用静水法,水温 25~28℃,实验期间不投喂。分别在实验的第 4 天和第 7 天取鳃和肝组织样品,每次每组取样 6~8 尾鱼,重复 3 次,样品称重后置于-40℃低温保存。

#### 1.4 样品制备

将组织样品分别置于冰浴中加 0.5 ml 预冷双蒸水在玻璃匀浆器中匀浆,匀浆液用冷冻离心机于 4℃、12 000 r/min 离心 20 min,取上清液测 SOD 活

性和蛋白含量。

### 1.5 SOD 活性测定

参照邹国林等改进的邻苯三酚自氧化法<sup>[10]</sup>。

### 1.6 蛋白含量测定

参照 Forlin - Pheal 试剂法<sup>[11]</sup>。

### 1.7 数据分析

结果分析采用 ANOVA 单因素方差分析和 Duncan 多重比较进行各组之间 SOD 平均值的差异显著性检验, 统计分析应用 Excel 97 软件。

## 2 结果

### 2.1 鳃组织的 SOD 活性

从表 1 看出, 草鱼种在各组处理 4 d, 其鳃组织 SOD 活性在硬水和软水各组中与对照组相比无显著差别。在处理的第 7 天, 软水中 pH 6.0 和 pH 5.5 组的 SOD 活性均显著高于软水对照组, 而 pH 4.5 的软水组极显著低于对照组; 硬水中 pH 5.5 和 pH 4.5 组显著高于硬水对照组, 而 pH 6.0 的硬水组则与对照组无显著差别; 软水组与硬水组相比, 软水对照、pH 6.0 和 pH 5.5 组 SOD 活性均相应地显著高于硬水对照、pH 6.0 和 pH 5.5 组, 而软水 pH 4.5 组 SOD 活性显著低于硬水 pH 4.5 组。

表 1 草鱼在低 pH 水中处理 4 d 和 7 d 鳃组织的 SOD 活性  
Table 1 SOD activities of branchial tissue of grass carp fingerling at day 4 and day 7 in low pH waters

| 分组<br>Group | (Pr) U/mg        |                  |                          |                           |
|-------------|------------------|------------------|--------------------------|---------------------------|
|             | Day 4            |                  | Day 7                    |                           |
|             | 软水<br>Soft water | 硬水<br>Hard water | 软水<br>Soft water         | 硬水<br>Hard water          |
| pH 6.8      | 2.56 ± 0.22      | 2.69 ± 0.25      | 2.03 ± 0.69 <sup>b</sup> | 0.98 ± 0.60 <sup>c</sup>  |
| pH 6.0      | 2.32 ± 0.23      | 2.53 ± 0.33      | 2.57 ± 0.63 <sup>a</sup> | 1.16 ± 0.13 <sup>bc</sup> |
| pH 5.5      | 2.70 ± 0.59      | 2.66 ± 0.25      | 2.59 ± 0.29 <sup>a</sup> | 2.08 ± 0.15 <sup>a</sup>  |
| pH 4.5      | 2.73 ± 0.57      | 2.95 ± 0.36      | 0.35 ± 0.15 <sup>c</sup> | 1.37 ± 0.41 <sup>b</sup>  |

注: 每组数据为平均值 ± 标准差 (n = 18), 同一列中具不同字母标记的值表示显著差异。Data in each group are mean ± SD (n = 18); the different superscripts in the same column mean significant difference.

### 2.2 肝组织的 SOD 活性

从表 2 看出, 各组草鱼种在各实验用水中处理 4 d, 其肝组织的 SOD 活性均显著高于相应对照组。在处理的第 7 天, 软水中各组的 SOD 活性显著低于相应的 pH 对照组; 硬水中各组的 SOD 活性均显著高于相应的 pH 对照组; 软水组与硬水组相比, 软水对照组的 SOD 活性显著高于硬水对照组的, 其它相对应的实验组之间 SOD 活性无显著差别。

表 2 草鱼在低 pH 水中处理 4 d 和 7 d 肝组织 SOD 活性

Table 2 SOD activities of liver tissue of grass carp fingerling at day 4 and day 7 in low pH waters (Pr) U/mg

| 分组<br>Group | Day 4                      |                            | Day 7                     |                            |
|-------------|----------------------------|----------------------------|---------------------------|----------------------------|
|             | 软水<br>Soft water           | 硬水<br>Hard water           | 软水<br>Soft water          | 硬水<br>Hard water           |
|             |                            |                            |                           |                            |
| pH 6.8      | 24.59 ± 3.04 <sup>c</sup>  | 21.16 ± 2.35 <sup>c</sup>  | 32.39 ± 2.46 <sup>a</sup> | 16.20 ± 5.27 <sup>c</sup>  |
| pH 6.0      | 29.66 ± 5.45 <sup>a</sup>  | 37.34 ± 9.91 <sup>a</sup>  | 22.45 ± 1.87 <sup>b</sup> | 25.05 ± 12.89 <sup>a</sup> |
| pH 5.5      | 27.94 ± 1.88 <sup>ab</sup> | 28.62 ± 1.28 <sup>b</sup>  | 23.48 ± 0.44 <sup>b</sup> | 20.02 ± 8.16 <sup>b</sup>  |
| pH 4.5      | 29.58 ± 3.33 <sup>a</sup>  | 27.34 ± 10.65 <sup>b</sup> | 15.94 ± 4.31 <sup>c</sup> | 20.85 ± 6.42 <sup>b</sup>  |

注: 同表 1。The same as table 1.

## 3 讨论

SOD 是超氧阴离子自由基 ( $O_2^{\cdot-}$ ) 的清除剂, 是机体防御过氧化损害系统的关键酶之一, 它主要分布于胞浆和线粒体的基质中。在生理状态下, 由代谢产生的活性氧如  $O_2^{\cdot-}$  可为抗氧化防御系统所控制, 但当某些污染物在体内进行生物转化时, 同时产生氧化还原循环生成大量活性氧如  $O_2^{\cdot-}$ 、 $OH\cdot$ 、 $H_2O_2$  等, 这些活性氧又可使 DNA 断裂、脂质过氧化、酶蛋白失活等, 从而引起机体氧化应激反应, 在这些活性氧产生及转化中 SOD 等起着非常重要的作用<sup>[9]</sup>。

低 pH 在一定程度上刺激草鱼鳃和肝组织 SOD 活性显著升高; 当 pH 过低 (pH 4.5), 处理时间过长 (7 d) 时, 又引起鳃和肝组织 SOD 活性显著下降 (表 1, 2)。根据这一实验结果推测, 在正常情况下鱼体内的 SOD 活性和  $O_2^{\cdot-}$  含量达到一定的平衡, 低 pH 处理时, 鱼体内产生过量的  $O_2^{\cdot-}$ , 诱导鱼体 SOD 活性提高使二者达到一种新的动态平衡, 如果解除低 pH 处理鱼体有可能恢复到原来的平衡, 但当低 pH 处理时间延长, 酸度过大时, 鱼体就会产生大量  $O_2^{\cdot-}$ , 如果鱼体没有足够的 SOD 来清除过多的  $O_2^{\cdot-}$ , 就会造成鱼鳃和肝组织细胞的损害, 细胞不能进行正常的生理活动, SOD 活性降低或丧失, 甚至导致细胞死亡的严重后果。

鱼鳃与肝组织细胞 SOD 活性差别很大, 肝比鳃 SOD 活性高 10 倍左右 (表 1, 2); 低 pH 引起 SOD 活性的变化, 肝比鳃更敏感, 低 pH 引起肝组织 SOD 活性升高在第 4 天即表现出来, 而鳃组织在第 7 天才表现出来; 低 pH 引起肝组织 SOD 活性降低, 在 pH 6.0 已表现出来, 而鳃在 pH 4.5 时才表现出来。

鳃和肝 SOD 活性的不同, 可能与它们的生理功能不同以及低 pH 毒理特点有关。肝脏是体内主要的解毒器官, 肝巨噬细胞有活跃的吞噬能力<sup>[12]</sup>, 毒物在肝脏内氧化、还原或水解过程中会产生大量的

O<sub>2</sub><sup>-</sup>,相应地肝组织 SOD 活性高;低 pH 处理草鱼时,H<sup>+</sup>由鳃进入血液作用到很多靶组织细胞,这些被伤害的组织细胞产生的代谢紊乱产物又汇集到肝脏,从而使肝组织 SOD 的活性变化较为敏感;鳃是呼吸器官,几乎没有解毒功能,因此 SOD 活性和敏感性比肝脏要低得多。

pH 4.5 时,软水组和硬水组比软水对照组鳃和肝组织的 SOD 活性显著降低,但硬水组比软水组鳃和肝组织的 SOD 活性显著升高,提示提高水的硬度可减轻低 pH 引起的鳃和肝组织 SOD 活性降低,但此结论无法解释实验第 7 天硬水对照组鳃和肝组织 SOD 活性显著低于软水对照组的实验结果。显然水中硬度即 Ca<sup>2+</sup> 浓度的高低在不同条件下的作用是不同的,或者说 Ca<sup>2+</sup> 在不同条件下的作用是有利或有弊的。本实验草鱼种生活的珠江三角洲地区水质偏软,软水对照组与其生活环境水硬度接近,但硬水组差别很大,水中 Ca<sup>2+</sup> 远远超出其正常需要,并且过多的 Ca<sup>2+</sup> 可能干扰鳃和肝的生理功能,从而导致鳃和肝组织的 SOD 活性下降,但在过低 pH(pH 4.5)情况下,提高水中硬度相对地使鳃和组织 SOD 活性升高,有一种可能的解释是,低 pH 对鱼类毒害途径之一可能是干扰 Ca<sup>2+</sup> 的吸收。因此,提高水质硬度,可能有利于 Ca<sup>2+</sup> 吸收,从而减轻低 pH 毒害作用,详细机制有待进一步深入研究。

#### 参考文献:

- [1] Beamish R. Acidification of lakes in Canada by acid precipitation

and the resulting effects on fishes[J]. Water Air Soil Pollution, 1976, 6:501-514.

- [2] Haines T A. Acid precipitation and its consequences for aquatic ecosystems; a review[J]. Trans Amer Fish Soc, 1981, 110:669-707.
- [3] Jensen K, Snekvik E. Low pH levels wipe out salmo and trout populations in southernmost Norway[J]. Ambio, 1972, 1:223-225.
- [4] Evans L S, Hendrey G R, Stensland G J, et al. Acidic precipitation: consideration for an air quality standard[J]. Water Air Soil Pollution, 1981, 16(4):469-509.
- [5] 张雨英,李辛夫. 酸性水对几种主要淡水鱼类的影响[J]. 水生生物学报,1997, 21(1):40-48.
- [6] 张雨英,李辛夫. 低 pH 对鱼类胚胎发育、鱼苗生长及鳃组织损伤影响的研究[J]. 水生生物学报,1992,16(2):175-182.
- [7] 余日清,贺锡勤. 低 pH 对草鱼血液酸碱平衡的影响[J]. 环境科学学报,1992,12(1):112-118.
- [8] 余日清,贺锡勤. 低 pH 对草鱼呼吸活动和耗氧代谢的影响[J]. 环境科学学报,1992,12(1):105-111.
- [9] 徐立红,张雨元,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.
- [10] 邹国林,桂兴芬,刘晓凌,等. 一种 SOD 的测活方法—邻苯三酚自氧化法的改进[J]. 生物化学与生物物理进展,1986,13(4):71-73.
- [11] Lowry O H, Rosebrough N J, Farr A L, et al. Protein measurement with the folin phenol reagent[J]. J Bio Chem, 1951, 193:265-275.
- [12] 倪达书,汪建国. 草鱼生物学与疾病[M]. 北京:科学出版社,1999.33-35.

## Effects of low pH on superoxide dismutase (SOD) activities of branchial and liver tissue of grass carp

MA Guang-zhi, TANG Mei, XU Jun

(Department of Biology, South China Normal University, Guangzhou 510631, China)

**Abstract:** The branchia and liver tissues of grass carp were treated at different pH levels (6.0, 5.5, 4.5) for 4 and 7 d. The SOD activity of liver tissue at low pH was significantly higher than that in controls(pH 6.8) on the 4 th day, but the SOD activity of branchia tissue was not significantly different. On the 7 th day, the SOD activity of liver tissue decreased significantly in lower pH groups, whereas that of branchia tissue in pH 6.0 and pH 5.5 groups was significantly higher than that in controls and the SOD activity at pH 4.5 was significantly low. The results in hard water groups also show that low SOD activity caused by low pH (pH 4.5) can be raised by increasing Ca<sup>2+</sup> concentration in water.

**Key words:** *Ctenopharyngodon idellus*; branchia; liver; pH; SOD; enzymatic activity