

汞离子胁迫对红鳍笛鲷抗氧化酶及乙酰胆碱酯酶活性的影响

王学锋^{1,2,3}, 陈海刚¹, 蔡文贵¹, 秦洁芳^{1,3}, 贾晓平^{1*}

(1. 中国水产科学研究院南海水产研究所, 广东省渔业生态环境重点实验室,

农业部南海渔业资源环境重点野外科学观测试验站, 广东 广州 510300;

2. 广东海洋大学水产学院, 广东 湛江 524088;

3. 上海海洋大学海洋科学学院, 上海 201306)

摘要: 为探讨鱼体抗氧化系统以及神经系统对水体中汞胁迫的响应机制, 在实验条件下研究了汞离子对红鳍笛鲷幼鱼[体长为(4.95 ± 0.79) cm, 体重为(4.57 ± 2.02) g]的急性毒性及对鱼体肝脏、鳃组织的超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)及脑组织乙酰胆碱酯酶(AChE)活性的影响。结果表明: 半静水实验条件下, 汞离子对红鳍笛鲷幼鱼的安全浓度为0.040 mg/L。汞离子暴露6 h时, 各浓度组的肝脏SOD酶活均比对照组有显著升高($P < 0.05$)。随暴露时间的增加, 低浓度组SOD的活性变化较小, 而高浓度组鱼体肝脏SOD的活性出现被诱导或被抑制的现象, 表明鱼体在高浓度汞胁迫下抗氧化系统出现一定程度的紊乱。鳃的SOD活力在暴露6 h亦显著升高, 随着时间的延长, 各浓度组SOD的活性具不同程度的下降趋势。MDA含量的变化表明, 鳃组织在暴露6 h时已开始受到显著损伤($P < 0.05$), 而肝在6 h时无显著变化, 在12 h时开始受损伤。脑组织AChE活性在暴露6 h时略受抑制($P > 0.05$); 暴露12 h时高浓度组显著增加($P < 0.05$), 诱导率平均为36%; 汞离子暴露24 h时, 鱼脑AChE的抑制率分别为28%~38%; 暴露48 h、96 h时抑制率为14%~24%、12%~17%。

关键词: 红鳍笛鲷; 重金属; 超氧化物歧化酶(SOD); 丙二醛(MDA); 乙酰胆碱酯酶(AChE); 抗氧化

中图分类号: Q 955; S 917

文献标识码: A

随着渔业生产的不断发展, 重金属污染物的排放使环境日趋恶化, 不仅影响到生态系统的完整性, 同时也直接或间接地对生物个体的正常生理机能产生了胁迫, 因此研究环境中重金属元素的污染危害与迁移转化十分重要^[1]。日本水俣病(1950-1970年)出现后, 汞污染成为重金属污染物中的研究重点^[2]。然而, 由于汞在水生生态系统中呈现较为复杂的形态和相对较高的活性, 以及对水生生物较强的毒性与毒害机理的复杂性, 有关汞在水生生态系统中的形态、分布、转化、生物有效性及毒害机理等还未真正研究清楚^[3]。水生生物对汞污染(或其它污染物)的暴露可以通过监测水体、沉积物或生物体的污染水平进行评价, 然而, 通常这些

测定还不能完全反映水生生态系统的环境质量^[4], 况且监测水体中所有的污染物含量也不切实可行。而通过水生生物在污染物暴露下其生化指标的变化来反映生物个体生理过程受到的潜在损害来评价水体生态环境质量是可行的^[5]; 同时, 通过监测生物个体的早期生化指标的变化(可逆或部分可逆)对于水体污染物的生物有效性也很有必要^[4]。研究汞对鱼类的毒性、毒理, 可为判断水域汞污染的生物有效性、毒性等方面的分析提供依据^[6]。鱼体中的汞是引起人类汞中毒的重要途径, 其含量可反映当地汞污染水平^[7]; 也是汞污染的区域生态风险评价和水产品质量安全的重要反映指标之一。目前重金属离子对水生生物的急性毒性、联合毒性

收稿日期: 2010-08-12 修回日期: 2010-10-02

资助项目: 广东省科技计划项目(2009B030600001); 中央级科研院所公益项目(2009YD01, 2010YD04); 广东省渔业生态环境重点实验室开放基金(LFE-2010-001, LFE-2010-11)

通讯作者: 贾晓平, E-mail: Jxp60@tom.com

多有研究^[8-17],水生生物在重金属污染中长期胁迫下的实验也见诸报道^[18-21],在暴露多长时间水生生物体内生化指标开始对污染物胁迫作出响应的研究甚少。

红鳍笛鲷(*Lutjanus erythropterus* Bloch)为南海重要食用经济鱼类。由于其个体大、产量高、肉质鲜嫩、经济效益佳,已成为海水网箱养殖业的主要品种之一^[22]。本文研究汞离子对红鳍笛鲷的急性毒性及其抗氧化系统的响应机制,为人工健康养殖红鳍笛鲷及近岸养殖区生态环境保护提供科学理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物与实验条件

实验用红鳍笛鲷幼鱼购自海南陵水博宇养殖场同一批孵化的健康活泼个体,体长为(4.95 ± 0.79) cm,体重为(4.57 ± 2.02) g。运回实验室后放入0.5 m³的PP养殖水槽内,养殖密度200~300 ind/m³水体,采用双层砂滤自然海水暂养,24 h曝气,驯养9 d后开始试验,驯养期间死亡率低于6%。整个实验期间的水温为(26.60 ± 0.82) °C, pH(7.7 ± 0.1),盐度为(36 ± 1),棚内自然光照,养殖用水符合渔业水质标准^[23]。急性毒性实验采用静水停食实验法,于长42 cm × 宽30.5 cm × 高30 cm的白色半透明塑料箱(急性毒性实验溶液体积为20 L)内进行,酶活性试验分别在另外4个500 L玻璃缸水槽内进行。

1.2 试剂

HgCl₂购自贵州铜仁化学试剂厂,AR级。实验前用蒸馏水配制成一定质量浓度母液备用。

1.3 急性毒性实验

根据预实验结果确定Hg²⁺质量浓度范围(96 h后全致死浓度和全存活浓度),在实验条件下,参考分对数Oleciog设置Hg²⁺间隔浓度0.160,0.250,0.400,0.630,0.790 mg/L共5个浓度组^[24]。整个实验设一个对照组,每个浓度组设2个平行,开展急性毒性实验。每一实验容器内各放入实验鱼20条,连续观测受试对象的活动情况,及时取出死亡个体。为减少水体其它因素的影响,实验前分别用对应浓度的溶液浸洗容器,每24小时换液一次。

1.4 样品酶液制备及活性测定

在急性毒性实验的基础上,分别设0.000 5,

0.002 5,0.005,0.025 mg/L Hg²⁺为I、II、III、IV组浓度在玻璃缸(500 L)进行单因子实验,设一个对照组。每个缸内放入实验鱼40尾,每48小时更换溶液一次。各缸放鱼后的第6、12、24、48、96小时,分别从各水族箱取出3~5尾鱼,于冰盘内迅速解剖,取鳃、肝脏、脑组织,分别称重。用4 °C预冷0.86%生理盐水淋洗、滤纸吸干后用预冷的Tris-HCl缓冲液(0.01 mol/L Tris,0.25 mol/L蔗糖,0.1 mmol/L EDTA,pH 7.5)在冰浴条件下用组织匀浆器匀浆,冷藏于4 °C的冰箱内备用。每个样品均设3个平行测定。

将匀浆液用高速冷冻离心机离心15 min(6 000 r/min),取上清液用于测定超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、丙二醛(maleic dialdehyde, MDA)及乙酰胆碱酯酶(acetylcholinesterase, AChE)活性。同步测定各组织的总蛋白含量。3种酶活的测定均使用南京建成生物工程研究所研制的试剂盒测定,其中总蛋白采用考马斯亮蓝G-250法^[25],SOD采用黄嘌呤氧化酶法^[26],MDA采用硫代巴比妥酸(TBA)法^[27],AChE采用TNB比色法^[26]。反应液吸光值用UV-7504紫外可见分光光度计测定。

酶活力单位的定义:每毫克组织蛋白在1 mL反应液中SOD抑制率达50%时所对应的SOD量为一个SOD活力单位(U)。每毫克组织蛋白在37 °C保温6 min,水解反应体系中1 μmol基质为AChE的1个活力单位(U)。

1.5 数据处理

实验数据结果以“均值(\bar{X}) ± 标准差(SD)”表示,用单因素方差分析暴露时间和离子浓度对酶活性的影响程度;组间数据的两两比较采用单尾t检验。

安全浓度^[28]的计算公式如下:

$$SC = 0.1 \times 96 \text{ h LC}_{50}$$

式中,SC为安全浓度,96 h LC₅₀为红鳍笛鲷幼鱼染毒96 h后的半致死浓度。

按下式计算酶的抑制率:

AChE抑制率(%) = (正常酶的活性 - 抑制酶的活性/正常酶的活性) × 100

2 结果与分析

2.1 Hg²⁺对红鳍笛鲷幼鱼的急性毒性效应

红鳍笛鲷在不同质量浓度的汞离子污染下均

呈明显的中毒症状:刚开始鱼体表现出异常反应,出现明显的“毒物兴奋效应”,在水体中上下或呈旋涡式快速游动、侧游、翻转等异常行为,平衡能力逐渐减弱。汞暴露 7~8 h 后,鱼体游泳速度减缓,个别鱼靠近缸底或缸壁静止不动或侧卧,逐渐丧失运动能力而死亡,暴露期间多数鱼喜集群聚集在一起,体色明显发黑。死亡后的鱼体表较干燥,部分鱼鳃盖附近出现絮状粘膜;一些鱼的鳞片

出现部分脱落。随着汞离子浓度的降低,实验鱼的上述反应所需时间延长,但总体症状类似。

据急性毒性实验数据,运用概率单位法计算红鳍笛鲷不同暴露时间段的急性毒性特征(表 1)。其中置信区间用经 Feiller 校正的可信限表示;用 Pearson 相关系数法检验死亡概率单位与质量浓度间的相关性,可看出各方程拟合程度较好。

表 1 不同时间的 Hg^{2+} 暴露对红鳍笛鲷幼鱼的急性毒性特征
Tab. 1 The acute toxicity of Hg^{2+} on the young crimson snapper in different intervals

暴露时间(h) exposure time	概率单位-浓度回归方程 probit-regressed equation	相关系数 R^2 correlation coefficient	半致死浓度 LC_{50} median lethal concentration	置信区间 confidence interval	安全浓度(mg/L) safe concentration
24	$Y = 6.2662 + 5.5445 \log(x)$	0.763	0.591	0.513 ~ 0.695	0.059
48	$Y = 6.9575 + 5.6027 \log(x)$	0.904	0.447	0.368 ~ 0.515	0.045
96	$Y = 6.6791 + 4.2798 \log(x)$	0.793	0.405	0.341 ~ 0.479	0.040

参照鱼类毒性分级标准^[29](mg/L):96 h $\text{LC}_{50} < 1$ 为剧毒,1~100 为高毒,100~1 000 为中等毒性,1 000~10 000 为低毒,>10 000 为微毒或无毒。因此汞离子对红鳍笛鲷毒性为剧毒。

2.2 Hg^{2+} 对肝脏 SOD、MDA 的影响

单因素方差分析表明,4 个浓度组的汞暴露随时间的变化对红鳍笛鲷幼鱼肝脏 SOD 酶活的影响均存在显著性差异($P < 0.05$)。第 I 组表明低浓度的汞暴露对肝脏 SOD 的活性具有显著的促进作用。第 II 组在短时间内(6 h)对肝脏 SOD 酶有明显的促进作用,表明肝的抗氧化功能已对汞胁迫作出响应。12 h 表现为抑制,24 h 酶活变化不明显($P > 0.05$)。48 h 表现为抑制作用,在 96 h 时为诱导作用。第 III 组在 6 h 表现为促进作用,12、48 h 为抑制作用,24、96 h 为诱导作用。第 IV 浓度组在 6、24 h 表现为促进作用,在 12、48、96 h 表现为抑制作用,且总体变化幅度较大。

综上,低浓度的汞暴露对鱼体肝脏 SOD 酶活具诱导作用,随着汞浓度的增加,鱼体肝脏 SOD 酶的活性出现促进与抑制交替现象,表明在高浓度汞胁迫下鱼体抗氧化系统出现一定程度的紊乱。

不同浓度组的汞胁迫对鱼肝组织的 SOD 活力的影响见图 1。暴露 6 h 时各浓度组的肝脏 SOD 酶活均比对照组有极显著升高($P < 0.01$),表明汞暴露对肝脏 SOD 的活性具诱导作用。随暴露时间的延长,各浓度组对 SOD 酶活的诱导出现差异:在低浓度(如 I 组)的暴露下,鱼体会逐渐适应,而在高

浓度暴露下,酶活力受抑制,如第 III、IV 组暴露在 48、96 h SOD 酶活性均低于对照组。

4 个浓度汞胁迫下 MDA 的变化见图 2。在短时间(6 h)暴露下,丙二醛的变化不大,表明细胞受损伤的程度不显著;随暴露时间的延长,较高浓度如第 II、IV 组 MDA 含量在 12、96 h 均显著升高($P < 0.05$),在 24、48 h 时较对照组略有升高($P > 0.05$)。在暴露 6 h 时,因 SOD 酶活的显著诱导鱼体肝组织并无显著受损伤,随暴露时间的增加,肝细胞受到不同程度地损伤,SOD 的抗氧化作用不足以抵消汞胁迫对肝组织的影响,从而其新陈代谢及正常的生命活动亦受到影响。

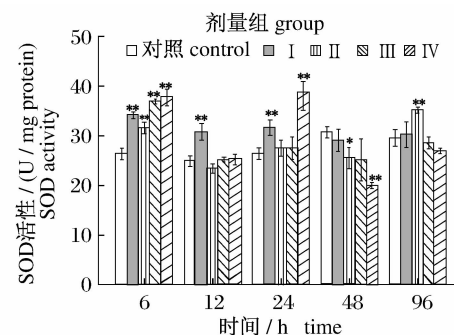


图 1 Hg^{2+} 对红鳍笛鲷幼鱼肝脏 SOD 活性的影响

与对照组相比(t 检验) * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

Fig. 1 Effects of Hg^{2+} on SOD activities in the liver of *L. erythropterus*

Compared with the control using t -test, * means $P < 0.05$, and ** means $P < 0.01$.

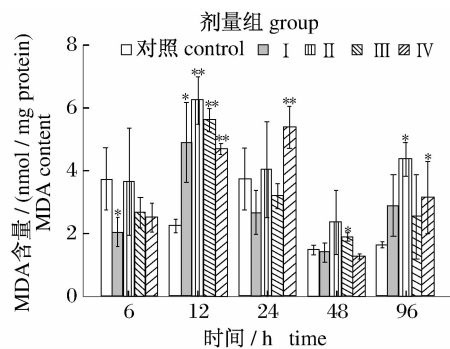


图2 Hg^{2+} 对红鳍笛鲷幼鱼肝脏MDA的影响

Fig.2 Effects of Hg^{2+} on the content of MDA in the liver of *L. erythropterus*

2.3 Hg^{2+} 对鳃SOD、MDA的影响

不同浓度汞暴露对鳃SOD、MDA的影响见图3、图4。由图3可见,鳃组织SOD活力升高,96 h暴露期间停止喂食,虽然鳃不是汞的主要解毒器官与靶器官,但它是水体中的汞离子进入鱼体的主要通道之一。与肝组织MDA含量变化趋势相比,在96 h汞暴露下,鳃组织的受损伤程度

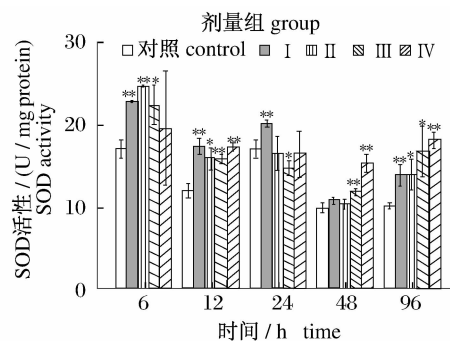


图3 Hg^{2+} 对红鳍笛鲷幼鱼鳃SOD活性的影响

Fig.3 Effects of Hg^{2+} on the SOD activities in the gill of *L. erythropterus*

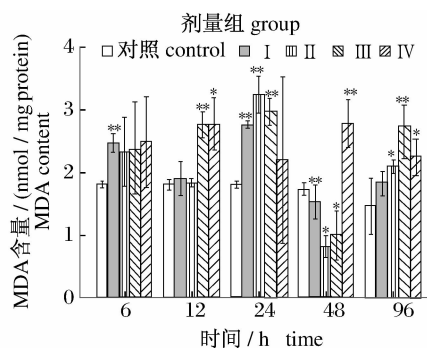


图4 Hg^{2+} 对红鳍笛鲷幼鱼鳃MDA含量的影响

Fig.4 Effects of Hg^{2+} on the content of MDA in the gill of *L. erythropterus*

较大(图4),且在暴露6 h时鳃已有显著升高,这与鳃器官与汞离子首先并持续接触汞离子有关。

2.4 Hg^{2+} 对脑组织AChE的影响

Hg^{2+} 胁迫下红鳍笛鲷脑组织乙酰胆碱酯酶的活性变化见图5。脑组织AChE活性的总体变化趋势是:暴露6 h时,鱼脑AChE活性略受抑制($P > 0.05$),12 h暴露时高浓度组显著增加,诱导率平均为36%;随暴露时间的延长,24 h鱼脑AChE的活性受到不同程度的抑制($P > 0.05$),第II、IV组的抑制率分别为38%,28%。48 h、96 h抑制率分别为14%~24%,12%~17%。从图5亦可看出,各时间段部分浓度组例外,如48 h第III组,96 h第II组,这可能与鱼体个体的差异或实验的采样数量有关。

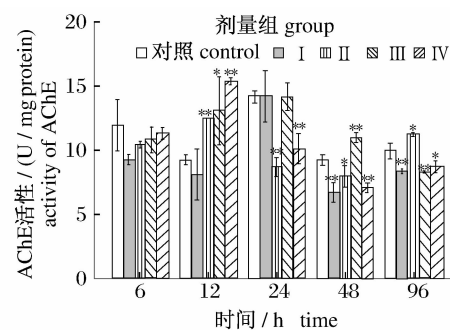


图5 Hg^{2+} 对红鳍笛鲷幼鱼脑组织AChE活性的影响

Fig.5 Effects of Hg^{2+} on the activity of AChE in the brain of crimson snapper *L. erythropterus*

3 讨论

研究表明,汞离子对红鳍笛鲷幼鱼的毒性为剧毒,96 h的安全浓度为0.040 mg/L。渔业水质标准^[23]汞的最高允许浓度为0.000 5 mg/L,可见红鳍笛鲷幼鱼对汞的耐受性较高。本文在设置亚致死浓度组时,以渔业水质标准最高允许浓度为第I浓度组,研究在不同浓度污染胁迫下鱼体的抗氧化系统响应机制。

3.1 汞对鱼体抗氧化能力指标的影响

重金属的靶器官与慢性、急性等不同的暴露实验条件而异^[30]。汞进入生物体内,对含硫化合物具有高度亲和特性^[31]。一些参与生物体内物质代谢的重要酶类,其活性中心是-SH基,当汞与酶中的-SH基结合时,就可使酶失去活性,从而影响酶在机体内的正常功能。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,产

生大量的活性氧,这些活性氧可能造成 DNA 断裂、脂质过氧化、酶活性改变,从而引起机体氧化应激反应^[32]。SOD 是水生生物抗氧化保护酶的重要组成部分之一,可用其作为氧化胁迫的生物指标。已有研究表明,抗氧化防御系统的成分中由于污染胁迫而发生改变,这些抗氧化防御系统成分的变化作为氧化胁迫生物指标的研究正成为毒理学研究新的热点之一^[33-35]。

即使较低浓度的重金属胁迫也会影响鱼类的形态^[36-37]和生理生化指标^[37-38],从而影响到鱼类正常的免疫功能、行为、生长率或营养成分、消化酶活性、饵料消化吸收速率及代谢的改变。鱼体内的汞累积会使鱼致畸、基因突变、性腺毒性,或影响脂质、蛋白,缩氨酸的代谢。脂质过氧化终产物二醛基化合物如丙二醛可与蛋白质的氨基发生作用导致多肽链的链内交联和链间交联,修饰了的蛋白质和酶将失去它们的生物活性,导致代谢异常^[35]。因此,丙二醛的量常常可反映机体内脂质过氧化的程度,从而间接反映出细胞损伤的程度。

目前针对汞在生物体内的积累、分布规律研究较多,而与之对应的汞对鱼体的急性毒理方面研究仍较少。本研究表明,在汞暴露较短时间(6 h)内,红鳍笛鲷肝脏 SOD 酶活显著升高,而肝脏受损伤的程度还不甚明显(以 MDA 含量计),随着暴露时间的延长,SOD 活性受到一定程度的抑制,而 MDA 的含量则逐渐升高,表明肝受到不同程度的损伤。总体来讲,高浓度汞暴露会逐渐对 SOD 活性产生较大抑制,且对肝的损伤也较大。就鳃组织来讲,由于鳃是水体中汞离子进入鱼体的主要通道,SOD 酶活性多有显著升高;随暴露时间的延长,MDA 含量显著升高,表明鳃组织亦受到不同程度的损伤,且汞暴露下首先受到损害的是鳃组织(暴露 6 h 左右),在暴露 12 h 左右肝组织才开始受到明显损害。由于抗氧化系统是鱼体对汞污染引起的过氧化的一种响应,仅在一定范围内有效,随着汞污染时间的增加,鱼体的 SOD 酶活在“毒物兴奋效应”期后,逐渐受到抑制,各项正常的代谢活动势必受到影响。郑永华等^[39]研究表明,受汞污染后,鲤、鲫鱼肝、鳃组织转氨酶活性下降,以肝胰脏最明显。

3.2 对脑组织 AChE 的影响

汞在鱼体内的分布一般是:肌肉 > 肝脏 > 肠 >

脾 > 脑 > 性腺。这与肌肉中功能蛋白(-SH, -NH₂, -COOH, -OH)含量高有关,而这些功能蛋白对汞有较高的吸附性^[40-41]。来自环境污染的胁迫作用于生物的感觉系统,信息传递至大脑中枢神经,生物表现出诸如回避^[14]、短期的毒物兴奋等效应。AChE 是胆碱能神经传导中的一种关键酶,主要存在于神经元和神经-肌肉接着处,其主要生物学功能是快速水解神经递质乙酰胆碱(acetylcholine, Ach)而终止 Ach 对胆碱能受体的兴奋作用,保持神经冲动传导的灵敏性,另外还对神经元细胞的分化、迁移、突触的形成等具调控作用^[42]。

AChE 普遍存在于大多数生物体内,早在 20 世纪 50 年代就有用鱼脑或无脊椎动物的 AChE 的抑制程度作为污染评价指标^[43]。鱼脑 AChE 活力的变化能灵敏显示水中微量有机磷农药的存在^[44-45],能从生化、分子、生理和行为的角度反映环境质量,因此成为污染生物标志物的研究热点。

甲基汞对生物体的中枢神经系统有一定的损害作用。本实验表明无机汞暴露 6 h 对鱼类脑组织 AChE 活性没有显著影响($P > 0.05$),较高汞浓度暴露 12 h 对 AChE 有一定的诱导作用;随着暴露时间的延长(24 ~ 96 h),AChE 的活性受到不同程度的抑制,表明汞胁迫已对鱼脑组织的正常生理功能产生了影响,在急性毒性实验中表现出的鱼不爱游动,喜集群,很可能与此有关,而鱼体内无机汞转化为有机汞的机制还需进一步研究。

综上,汞暴露下红鳍笛鲷幼鱼各组织酶活性的变化,反映了鱼体在不同时间段对汞污染的响应,对这种诱导或抑制酶活的机理仍需进一步探讨。研究发现,低浓度汞暴露下,鱼体的鳃、肝抗氧化防御系统在短时间内即会被诱导,起到保护作用,对鳃的损伤(6 h 左右)早于对肝的损伤(12 h 左右),在 12 h 左右对中枢神经系统产生显著影响。因此,在应用这些酶学指标作为指示生物的生化分析指标时,应考虑到其有效时间段,从而提高其可靠性。自然海域中以多种污染物混合污染为主,因此有必要开展污染物的联合毒性并分析其对鱼体生理的影响。另外,在重金属污染物的胁迫下,鱼体可能作出一系列的响应以最大限度地适应环境的改变,如可诱导产生更多的金属硫蛋白与重金属离子结合,以降低重金属的毒

性,从而起到一定的解毒作用。

谨对南海水产研究所海南热带水产研究开发中心李有宁、陈明强、张亚义在实验设施维护、养殖技术方面的大力支持表示感谢。

参考文献:

- [1] 廖自基. 环境中微量重金属元素的污染危害与迁移转化[M]. 北京:科学出版社,1989:32-68.
- [2] Tomiyasu T, Matsuyama A, Eguchi T, et al. Spatial variations of mercury in sediment of Minamata Bay, Japan[J]. Science of the Total Environment, 2006, 368(1):283-290.
- [3] 沈鑫绿,沈新强,邵留,等. 汞对水生动物的危害及机理[J]. 水利渔业,2005,25(4):105-107.
- [4] van der Oost R, Gosøyr A, Celander M, et al. Biomonitoring of aquatic pollution with feral eel (*Anguilla anguilla*) II: Biomarkers: pollution-induced biochemical responses [J]. Aquatic Toxicology, 1996, 36(3-4):189-222.
- [5] Everaarts J M, Sleiderink H M, den Besten P J, et al. Molecular response as indicators of marine pollution: DNA damage and enzyme induction in *Limanda limanda* and *Asterias rubens* [J]. Environ Health Perspect, 1994, 102(suppl. 12):37-43.
- [6] 肖志群,翁朝红,王志勇. 水体重金属污染的生物有效性评价研究进展[J]. 福建农业学报,2007,22(4):442-447.
- [7] 孟晓红,徐斌,霍永刚,等. 汞在水鱼体内的生物富集规律初探[J]. 广东微量元素科学,1998,5(8):17-19.
- [8] 林爱薇,管文帅,方展强. 汞、铬和镍对唐鱼的急性毒性及安全浓度评价[J]. 安徽农业科学,2009,37(2):627-629.
- [9] 温茹淑,郑清梅,方展强,等. 汞、铅对草鱼的急性毒性及安全浓度评价[J]. 安徽农业科学,2007,35(16):4863-4864.
- [10] 隋国斌,杨凤,孙丕海,等. 铅、镉、汞对皱纹盘鲍幼鲍的急性毒性实验[J]. 大连水产学院学报,1999,14(1):22-26.
- [11] 周名江,颜天,李钧,等. 黑褐新糠虾的急性毒性测试方法及其钻井液毒性评价中的作用[J]. 海洋环境科学,2001,20(3):1-4.
- [12] 刘克强. 汞、铅对非洲鲫鱼肝线粒体功能影响的研究[J]. 海洋科学,1985,9(4):36-38.
- [13] 王志铮,吕敢堂,许俊,等. Cr^{6+} 、 Zn^{2+} 、 Hg^{2+} 对凡纳滨对虾幼虾急性毒性和联合毒性研究[J]. 海洋水产研究,2005,26(2):6-12.
- [14] 侯兰英,赵鸿儒. 几种重金属对梭鱼的急性致毒及梭鱼回避反应的试验研究[J]. 海洋与湖沼,1993,24(5):507-510.
- [15] 王志铮,王伟定,杨阳,等. 4种重金属离子对彩虹明樱蛤(*Moerella iridescens*)的急性致毒效应[J]. 海洋与湖沼,2007,38(4):373-378.
- [16] 王志铮,吕敢堂,施建军,等. 4种重金属离子对中华鳖(*Trionyx sinensis*)稚鳖的急性致毒效应[J]. 海洋与湖沼,2009,40(6):745-752.
- [17] 马桂云,张振华,唐婉莹. 重金属对鱼类污染的研究进展[J]. 江苏环境科技,2003,16(2):38-40.
- [18] 华涛,周启星. Cd-Zn 对草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)的联合毒性及对肝脏超氧化物歧化酶(SOD)活性的影响[J]. 环境科学学报,2009,29(3):600-606.
- [19] 成嘉,符贵红,刘芳,等. 重金属铅对鲫鱼乳酸脱氢酶和过氧化氢酶的影响[J]. 生命科学研究,2006,10(4):372-376.
- [20] 黄小红,陈宏惠,刘建昌,等. 重金属离子对中华绒毛蟹 N-乙酰-β-D-氨基葡萄糖酶活力的影响[J]. 水生生物学报,2008,32(6):850-855.
- [21] 李少菁,王桂忠,翁卫华,等. 重金属对日本对虾仔虾存活及代谢酶活力的影响[J]. 台湾海峡,1998,17(2):115-120.
- [22] 王广军. 网箱养殖红鳍笛鲷高产试验[J]. 齐鲁渔业,2002,19(7):11-12.
- [23] 农牧渔业部. GB 11607-89 渔业水质标准[S]. 北京:中国标准出版社,1983.
- [24] 孔志明. 环境毒理学[M]. 4版. 南京:南京大学出版社,2008:73-83,301.
- [25] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding [J]. Analytical Biochemistry, 1976, 72(1-2):248-254.
- [26] 李龙,陈家堃. 现代毒理学实验技术原理与方法[M]. 北京:化学工业出版社,2005:145-146.
- [27] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京:高等教育出版社,2003:164-169.
- [28] 周永欣,章宗涉. 水生生物毒性实验方法[M]. 北京:农业出版社,1989:1-157.
- [29] 国家环境保护总局,水和废水监测分析方法编委会. 水和废水监测分析方法[M]. 4版. 北京:中国环境科学出版社,2002:777-781.
- [30] Brown D A, Bay S M, Hershelman G P. Exposure of Scorpionfish (*Scorpaena guttata*) to Cadmium: Effects of acute and chronic exposures on the

- cytosolic distribution of Cadmium, Copper and Zinc [J]. *Aquat Toxicol*, 1990, 16(4): 295-310.
- [31] 徐镜波. 环境毒理学[M]. 长春: 东北师范大学出版社, 2000: 15-28, 286-292.
- [32] 徐立红, 张甬元, 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.
- [33] Livingstone D R, Archibald S, Chipman J K, *et al.* Antioxidant enzymes in liver of dab *Limanda limanda* from the North Sea [J]. *Marine Ecology Progress Series*, 1992, 91(1-3): 97-104.
- [34] 冯涛, 郑微云, 郭祥群, 等. 苯并(a)芘对大弹涂鱼肝脏超氧化物歧化酶活性的影响[J]. *台湾海峡*, 2001, 20(2): 182-186.
- [35] 王镜岩, 朱圣庚, 徐长法. 生物化学[M]. 北京: 高等教育出版社, 2002: 96-103.
- [36] Samson J S, Shenker J. The teratogenic effects of methyl mercury on early development of the zebrafish *Danio rerio* [J]. *Aquat Toxicol*, 2000, 48(2-3): 343-354.
- [37] Sastry K V, Gupta P K. The effect of Cadmium on the digestive system of the teleost fish, *Heteropneustes fossilis* [J]. *Environ Res*, 1979, 19(2): 221-230.
- [38] Sastry K V, Sachdeva S, Rathee P. Chronic toxic effects of cadmium and copper and their combination on some enzymological and biochemical parameters in *Channa punctatus* [J]. *J Environ Biol*, 1997, 18(3): 291-304.
- [39] 郑永华, 蒲富永. 汞对鲤鲫鱼组织转氨酶活性的影响[J]. *西南农业大学学报*, 1997, 19(1): 41-45.
- [40] Stepanova I K, Komov V T. Accumulation of mercury in fish from Vologodskaya oblast waterbodies [J]. *Ecologica*, 1997(4): 295-299.
- [41] Baldisserotto B, Kamunde C, Mastuo A, *et al.* A protective effect of dietary calcium against acute waterborne Cadmium uptake in Rainbow Trout [J]. *Aquat Toxicol*, 2004, 67(1): 57-73.
- [42] 姜爽, 张英鸽. 乙酰胆碱酯酶的构效关系研究进展[J]. *生物技术通讯*, 2005, 16(5): 563-566.
- [43] 周启星, 孔繁翔, 朱琳. 生态毒理学[M]. 北京: 科学出版社, 2004.
- [44] 朱小山, 孟范平, 朱琳, 等. 对有机磷农药敏感的海鱼脑 AChE 筛选研究[J]. *环境科学*, 2006, 27(3): 567-571.
- [45] Rodriguez-Fuentes G, Gold-Bouchot G. Environmental monitoring using acetylcholinesterase inhibition *in vitro*. A case study in two Mexican lagoons [J]. *Marine Environmental Research*, 2000, 50(1-5): 357-360.

Effects of mercury exposure on the antioxidant enzymes and acetylcholinesterase activities in the young crimson snapper (*Lutjanus erythropterus*)

WANG Xue-feng^{1,2,3}, CHEN Hai-gang¹, CAI Wen-gui¹, QIN Jie-fang^{1,3}, JIA Xiao-ping^{1*}

(1. Key Lab of Fishery Ecology and Environment, Guangdong Province, Key Field Observational and Experimental Station for Fisheries Resources and Environment of South China Sea, Ministry of Agriculture, South China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Guangzhou 510300, China;

2. Fisheries College, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524088, China;

3. College of Marine Sciences, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: To understand the response of fish antioxidant defense and neural system to mercury exposure, studies were conducted in laboratory between 26 and 29 °C on the acute toxicity and exposed effects on antioxidant enzymes and AChE activities in the young crimson snapper, *Lutjanus erythropterus* Bloch, of an average weight of (4.57 ± 2.02) g and body length (4.95 ± 0.79) cm. Using static renewal method, the results showed that the safe concentration of mercury chloride for the young crimson snapper was 0.040 mg/L. The enzymes activities were evaluated under four sublethal concentrations (0.0005 mg/L, 0.0025 mg/L, 0.005 mg/L and 0.025 mg/L Hg²⁺). The tissues (gill and liver) were tested for SOD, MDA activity and the brain for AChE after 6 h, 12 h, 24 h, 48 h and 96 h exposure, respectively. The results showed that hepatic SOD activities had significant increase on 6 h exposure ($P < 0.05$). With the increase of mercury concentration, the hepatic SOD activities were inhibited or induced, which showed the disturbance of fish metabolism. And the branchial SOD activities were also significantly elevated. The variation of MDA content exhibited that the gill was impaired on 6 h exposure, while the hepatic tissue was detected to be impaired on 12 h. The AChE activities in the brain had no significant decrease ($P > 0.05$) on 6 h exposure. However, it decreased with the induction rate of 36% on 12 h exposure. When the fish were exposed longer time, the inhibition rates were 28%–38%, 14%–24% and 12%–17% on 24 h, 48 h and 96 h exposure in concentrations respectively.

Key words: *Lutjanus erythropterus*; heavy metal; superoxide dismutase; maleic dialdehyde (MDA); acetylcholinesterase (AChE); antioxidant

Corresponding author: JIA Xiao-ping. E-mail: Jxp60@tom.com