

低浓度镉、锌暴露对白氏文昌鱼的毒性累积及其几种重要酶活性的影响

卢 斌,柯才焕*,王文雄

(厦门大学海洋与地球学院,福建 厦门 361005)

摘要: 采用亚慢性毒性实验研究了镉、锌对白氏文昌鱼(*Branchiostoma belcheri*) (简称文昌鱼)的毒性累积效应及体内超氧化物歧化酶(SOD)活性、乙酰胆碱酯酶(AChE)活性、磷酸酶活性及脂质过氧化产物丙二醛(MDA)含量的影响,探讨了亚致死浓度镉、锌胁迫下文昌鱼的生理生化响应. 研究表明,镉和锌对文昌鱼的 96 h 半致死浓度(LC_{50})分别为 4.60 和 2.26 mg/L,相比之下锌对文昌鱼的毒性更大. 实验采用理论上的镉、锌安全浓度(1/10 96 h LC_{50})对文昌鱼进行 7 d 的亚慢性暴露,随着暴露时间的推移,镉在文昌鱼体内呈线性增加,而锌的含量则与对照组无显著性差异,表明文昌鱼对锌的调节能力大于镉. 7 d 亚慢性毒性实验表明文昌鱼体内的 AChE 活性随着金属暴露时间的延长持续下降,至第 7 天时镉和锌对 AChE 活性的抑制率分别达 65% 和 79%;脂质过氧化产物 MDA 水平在金属暴露初期即达到极显著水平,随后稍有下降且镉对文昌鱼体内活性氧的诱导作用大于锌;SOD 活性在暴露中期受到显著抑制,可能是由于体内过氧化程度过高抑制其活性,之后逐渐恢复. 文昌鱼体内的碱性磷酸酶(AKP)活性在镉或锌暴露的第 1 天被显著诱导,之后恢复至对照水平;酸性磷酸酶(ACP)活性随镉暴露时间延长,呈现先升高再下降的趋势,而锌对 ACP 活性无显著影响. 实验结果表明即使是很低浓度的镉、锌都会对文昌鱼的神经系统及抗氧化等防御系统造成一定的损伤.

关键词: 文昌鱼; 镉; 锌; 乙酰胆碱酯酶; 超氧化物歧化酶; 丙二醛; 酸性磷酸酶; 碱性磷酸酶

中图分类号: Q 356.1

文献标志码: A

文章编号: 0438-0479(2012)04-0767-07

镉、锌作为常见的 2 种重金属,同属于第二副族元素. 它们的原子结构相似,离子半径、电负性都比较相近,在水环境中镉与锌往往是共存的. 虽然二者的化学性质有很多共同点,但它们的生物毒理作用却差别显著. 镉是环境中毒性、迁移性最强的重金属元素之一,微量的镉进入机体即可通过生物放大和积累,对各细胞、器官产生一系列的损伤^[1]. 而锌是生物体的必需元素,充当许多重要酶的金属辅基,可维持许多生物蛋白质在细胞中的结构和功能,如锌指蛋白是许多转录因子和 DNA 修复蛋白的功能区域^[2]. 一般生物对锌都有较强的耐受性,但长期大量锌暴露会引起血铜浓度大幅下降,免疫力受损等症状,如鲫鱼在低浓度锌暴露 40 d 后其抗氧化能力被显著抑制^[3].

当生物体应对外界胁迫时,如有机污染物入侵、重金属毒害、极端环境影响等,生物体即处于氧化胁迫的状态,体内的活性氧可攻击细胞内生物大分子如蛋白

质、脂类、DNA、酶等,造成蛋白质结构和功能的氧化性破坏、脂质过氧化作用、DNA 断裂等氧化损伤. 在毒性效应评估中,采用生物标志物如乙酰胆碱酯酶(AChE)、超氧化物歧化酶(SOD)等指示污染致毒程度,已成为国内外学者的共识^[4-5];而作为生物体受胁迫后诱导水平差异明显的化合物丙二醛(MDA)及承担免疫功能的磷酸酶活性均在生态毒理学领域中有相关报道^[6-7].

AChE 作为大部分水生动物感受器和神经肌肉之间的主要神经传递物质,可决定生物体正常的行为和肌肉功能. AChE 催化乙酰胆碱反应生成胆碱和乙酸,因此其活性的抑制或诱导均能够使动物体造成毒性效应,是一个经典的毒理指标. AChE 较多用于评价水体中有机磷农药的毒性,用于指示重金属离子污染的研究仅有少量报道^[8-9]. MDA 作为脂质过氧化的终产物之一,被广泛地作为指示生物体内脂质过氧化程度的检测指标^[10],研究发现,金属可以激发脂质过氧化作用,MDA 的含量可间接提示机体自由基水平^[11]. SOD 是细胞内最有效的抗氧化酶之一,是生物体内清除活性氧从而保护机体组织的第一道防线,生物体可通过 SOD 等应激变化来调节或抵抗氧化胁迫^[12]. 碱性磷酸

收稿日期:2012-02-27

基金项目:长江学者和创新团队发展计划项目(IRT0941)

* 通信作者: chke@xmu.edu.cn

酶(AKP)是一种非特异性磷酸水解酶,能催化磷酸单脂的水解及磷酸基团的转移反应,是水生动植物赖以生长、生存的重要酶类之一^[13]。王锐等^[14]曾报道在文昌鱼的肝盲囊和消化道中具有 AKP 活性,并指出 AKP 与跨膜运输有关,可参加物质的转运。酸性磷酸酶(ACP)是一类在酸性条件下催化水解磷酸单脂的水解酶,孙建梅等^[15]采用酶组织化学方法首次报道了 ACP 在文昌鱼体内的分布,指出文昌鱼体内 ACP 的主要功能可能与细胞内消化和免疫活性有关。

文昌鱼属脊索动物门(Chordata)、头索动物亚门(Cephalochordata)、文昌鱼科(Branchiostomidae),目前对文昌鱼的研究主要在进化比较、发育和基因等研究领域上。作为研究脊椎动物起源与进化的模式动物^[16],关于金属等污染物对文昌鱼的影响报道并不多。曾见铬、硒、铜、锌、镉等金属^[17-22]及有机物四氯化碳、六溴环十二烷^[23-24]对文昌鱼致毒效应情况的报道。

本文以厦门海域的白氏文昌鱼(*Branchiostoma belcheri*)(以下简称文昌鱼)为实验材料,通过 7 d 亚慢性毒性实验研究镉、锌对文昌鱼的毒性累积效应和体内 SOD、AChE、AKP、ACP 的活性及脂质过氧化产物 MDA 含量的影响,旨在探讨镉、锌对文昌鱼的毒性效应,并从体内几种重要酶活性及脂质过氧化产物水平的变化分析文昌鱼耐受金属胁迫的生理机制,为文昌鱼在毒理效应研究中提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

BS214D 型电子分析天平(赛多利斯,德国),DHG-9246A 恒温鼓风干燥箱(上海精密设备有限公司),SMZ1000 解剖镜(Nikon,日本),WXJ-20 电热消解仪(上海恒平设备有限公司),7700x 型 ICP-MS(Agilent, USA),PF-MR2100 型组织匀浆机(Poly Tron, USA),680XR 酶标仪(BIO-RAD, USA)。

氯化镉、氯化锌、浓硝酸(SIGMA, USA), Tris、EDTA(Amresco, USA), 氯化钠(分析纯, 国药), ACP、AKP、AChE、MDA 和 SOD 的试剂盒(南京建成生物工程研究所), Bradford 法蛋白浓度测定试剂盒(上海生工生物工程有限公司)。

1.2 实验动物

文昌鱼采自福建省厦门市欧厝附近海域。采回的文昌鱼先在温度 23 ℃, 盐度 28~30, 2~5 cm 厚沙底质, 持续充气的水体中暂养 7 d 以上。暂养期间每天投

喂活体单胞藻混合液, 投喂量为鱼体质量的 10%~20%。每天定时换水一次。投喂用的单胞藻均采用 f/2 培养基, 于温度 23 ℃, 盐度 33, 光照周期 14(光照): 10(黑暗)培养箱条件下培养至生长期后投喂。

正式的实验用鱼为经解剖镜观察挑选后体表没有损伤, 活力正常的健康文昌鱼, 体长(3.92±0.43) cm, 湿质量(0.12±0.04) g, 实验前一两天停止投喂。

1.3 方 法

1.3.1 镉、锌对文昌鱼的 96 h LC_{50} 测定

镉、锌分别由氯化镉和氯化锌用 0.45 μm 的膜滤海水配制成 1 g/L 的母液后稀释使用。根据预实验确定的浓度梯度, 每个浓度设有 3 个平行组, 每组 10 条文昌鱼。实验采用 1 000 mL 的 PE 烧杯(Nelgen), 温度 23 ℃, 持续充气。实验开始后, 于第 24, 48, 72 和 96 h 分别检查文昌鱼的存活状况, 及时取出死亡个体。文昌鱼死亡与否的鉴定, 以用玻棒刺激有无反应为准。实验期间, 不予投喂, 且每天根据相应浓度定时换水。记录每组浓度暴露 96 h 文昌鱼的死亡率, 用概率单位法推算出每种金属对文昌鱼的半致死浓度(LC_{50}), 以 1/10 的 96 h LC_{50} 作为每种金属对文昌鱼的安全浓度。

1.3.2 镉、锌在文昌鱼体内的富集累积

以镉、锌对文昌鱼的安全浓度作为亚致死剂量对文昌鱼进行静态毒性暴露, 并在暴露的第 1, 3, 5, 7 天取样。即每种金属处理组均设 4 个取样时间点, 每个时间点各设 3 个平行组和 1 个对照组, 每组各放 10 条, 共用 320 条文昌鱼。取样时分别从每个容器中取出 5 条文昌鱼迅速保存于液氮中用于后续酶活性测定, 同时另取 5 条用于镉、锌含量的测定。

1.3.3 镉、锌在文昌鱼体内的富集含量测定

用于体内金属含量测定的文昌鱼, 于分析天平称量后置于 80 ℃ 烘箱烘干至恒量, 加入 1 mL 浓硝酸 90 ℃ 消解过夜至液体澄清无颗粒, 适当稀释后采用等离子体质谱法测定文昌鱼体内的金属含量。

1.3.4 镉、锌暴露后文昌鱼体内的酶活性测定

用于酶活测定的文昌鱼先用预冷的缓冲液冲洗, 按 1 g 组织质量加 9 mL 冰冷的 Tris-HCl 缓冲液(pH 7.4 20 mmol/L Tris+1 mmol/L EDTA+1.5 mmol/L 氯化钠), 组织匀浆机 4 000 r/min 冰浴匀浆 20 s, 2 000 r/min 4 ℃ 离心 15 min, 上清液立即用于测定酶活性及蛋白质含量。

ACP、AKP、AChE、MDA、SOD 活性采用南京建

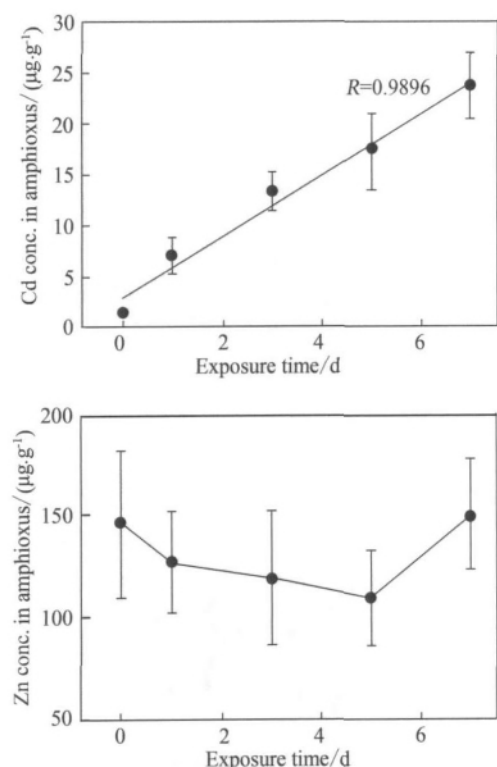


图1 7 d暴露后文昌鱼体内铜和锌含量富集曲线($n=5$)

Fig.1 The concentration of Cd and Zn in amphioxus

B. belcheri during seven days exposure ($n=5$)

成生物工程研究所提供的试剂盒进行测定. 其中ACP、AKP活性的测定采用磷酸苯二钠法, 以1 g组织蛋白在37℃与基质作用30 min产生1 mg酚为1个活力单位(U/g). AChE活性定义如下: 每mg蛋白在37℃下保温6 min, 水解反应体系1 μmol 基质为一个活力单位(U/mg). SOD活性按黄嘌呤氧化酶法, 活力单位定义为: 在37℃条件下, 1 mg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1个SOD活力单位(U/mg).

蛋白浓度的测定采用考马斯亮蓝法, 以牛血清蛋白(BSA)作为标准蛋白, 测定波长为600 nm.

1.4 数据处理与分析

所有结果以3次重复试验数据平均值 $\pm$ 标准差表示, 采用单因素方差分析(One-way ANOVA)对不同暴露时间组数据进行差异分析. 统计学分析采用SPSS 16.0软件完成, 不同字母表示两组间有显著差异($p < 0.05$), 利用Sigmar Plot软件作图.

2 结果与分析

2.1 铜、锌对文昌鱼的 LC_{50}

铜、锌对文昌鱼的96 h LC_{50} 分别为4.60和2.26

mg/L, 安全质量浓度分别为0.46和0.23 mg/L. 结果显示铜对文昌鱼96 h LC_{50} 高于锌的对应 LC_{50} , 表明文昌鱼对锌更加敏感.

2.2 文昌鱼体内金属累积含量

以暴露时间为横坐标, 文昌鱼体内所累积的金属含量为纵坐标, 绘制文昌鱼体内金属的含量曲线, 见图1. 由图1可知, 文昌鱼体内铜的含量与累积时间正相关($y = 2.98 + 2.99x$, $R = 0.9896$), 即随着暴露时间的增加, 文昌鱼体内铜的含量线性上升. 而文昌鱼体内的锌含量则与暴露时间无相关性, 表明文昌鱼在锌暴露的7 d时间内对锌表现出较强的调节作用.

2.3 铜、锌对文昌鱼体内AChE活性的影响

2种金属对文昌鱼体内AChE活性的影响见图2(a). 从图中可以看出, 与对照组同期酶活相比, 随着暴露时间的延长, 文昌鱼体内的AChE活性持续下降, 至第7天时铜和锌对AChE活性的抑制率分别达65%和79%, 其活性与对照组差异显著($p < 0.05$). 2种金属对其影响的趋势相同, 但锌的暴露对AChE活性影响更大、其活性更低.

2.4 铜、锌对文昌鱼体内MDA含量的影响

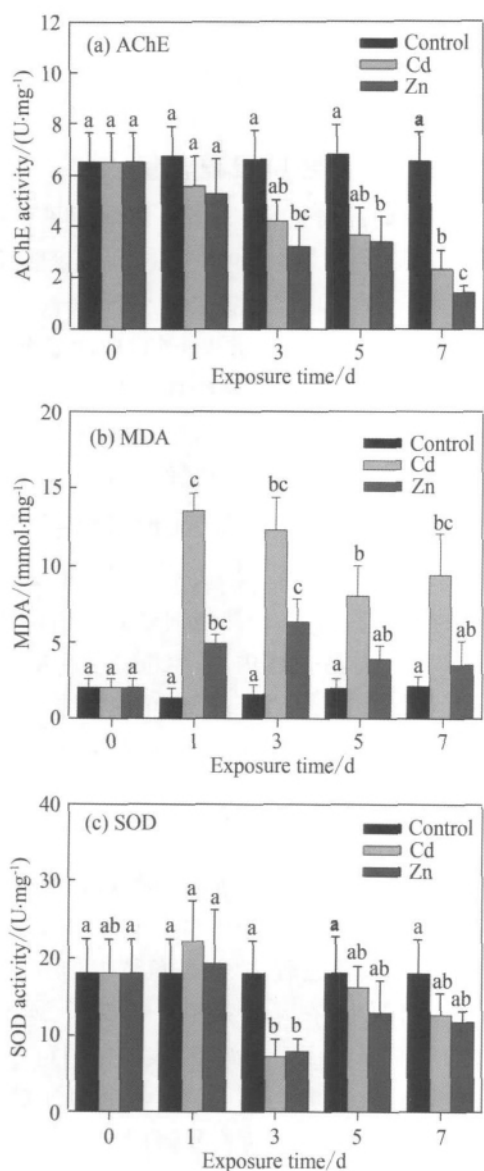
文昌鱼体内MDA含量的变化见图2(b). 从图中可以看出, 在铜暴露过程中, 文昌鱼体内的MDA水平均显著高于对照组, 在暴露第1, 3, 5, 7天MDA水平为对照组的10, 8.3, 2.7, 4.6倍, 表明文昌鱼已处于脂质过氧化状态. 在暴露初期MDA水平达到对照组的极显著水平($p < 0.01$), 随着暴露时间的推移, MDA水平呈降低趋势. 相比较铜暴露对文昌鱼体内MDA水平的影响, 锌暴露组的文昌鱼体内MDA水平在第1, 3, 5, 7天分别为对照组的2.5, 3.3, 2.1, 1.8倍, 显著低于铜暴露的影响. 实验表明不同的金属种类对文昌鱼体内的MDA水平影响不同, 与锌比较MDA含量受铜的诱导显著增强.

2.5 铜、锌对文昌鱼体内SOD活性的影响

由图2(c)可见, SOD活性在铜、锌2种金属的暴露初期表现有轻微的诱导, 但与对照组差异不显著. 到暴露第3天时出现了显著性的下降($p < 0.05$), SOD活性分别被铜、锌抑制了60%和56%, 随后逐渐恢复增强. 2种金属对SOD活性的诱导趋势相同.

2.6 铜、锌对文昌鱼体内AKP活性的影响

亚致死剂量浓度铜、锌对文昌鱼体内AKP活性的影响见图3(a). 由图可知, 在暴露第1天, AKP活性被显著诱导($p < 0.05$)出现峰值效应, 暴露第3天恢复至正常水平. 整个暴露过程呈现出先升高后降低的



数据为平均值±标准差($n=5$);不同字母表示显著差异($p<0.05$).

图2 安全浓度镉、锌暴露7 d对文昌鱼体内各生化指标的影响

Fig. 2 Influence of sublethal Cd and Zn on sevel biochemical parameters in amphioxus *B. belcheri* during seven days exposure

趋势. 比较2种金属的影响, 在锌的暴露下 AKP 活性峰值是镉暴露的2.4倍, 可见文昌鱼 AKP 活性对锌的反应更为强烈.

2.7 镉、锌对文昌鱼体内 ACP 活性的影响

文昌鱼体内的 ACP 在镉、锌诱导下的活性影响见图3(b). 在镉暴露的第1天和第7天, ACP 活性均显著高于对照组($p<0.05$), 表明镉对 ACP 活性有显著诱导; 而在锌暴露的整个过程中, ACP 活性与对照组差异不显著. 由图可见, 2种金属对文昌鱼体内 ACP 的影响程度有较大差别, 其中锌对文昌鱼 ACP 活性的

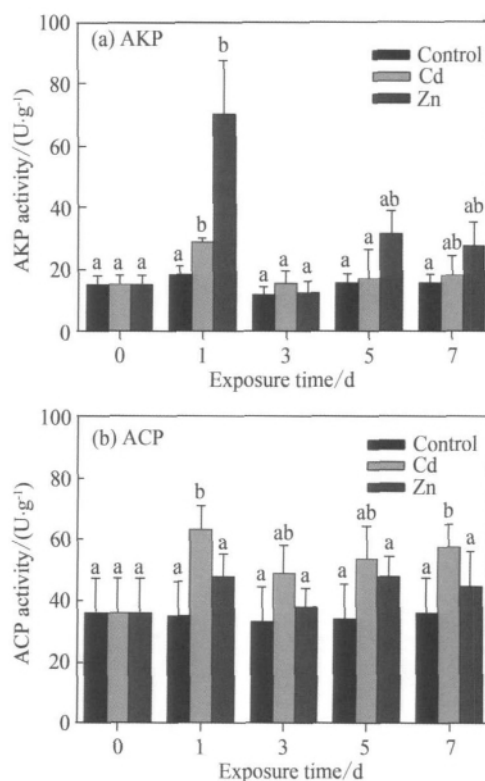


图3 安全浓度镉、锌暴露7 d对文昌鱼体内 AKP、ACP 活性的影响

Fig. 3 Influence of sublethal Cd and Zn on activity of AKP and ACP in amphioxus *B. belcheri* during seven days exposure

抑制性比镉更强.

3 讨论

本实验采用20世纪80年代提出的7 d亚慢性毒性实验检测镉、锌在文昌鱼体内的累积及对文昌鱼体内几种酶活力的影响. 实验表明重金属对文昌鱼的毒性与重金属种类相关, 镉对文昌鱼的96 h LC_{50} 高于锌对应的 LC_{50} , 因此本实验中文昌鱼对锌的反应更加敏感. 但是在生物体中锌是许多酶的组成部分, 属于必需微量元素, 在其他鱼类及贝类中, 镉、锌的毒性大小一般为镉>锌, 即生物体对锌的耐受性比镉大. 如王瑞龙等^[25]采用静水法得出铜、镉和锌对唐鱼(*Tanichthys albonubes*)的急性毒性大小依次为铜>镉>锌. 颜天等^[26]以海湾扇贝(*Argopecten irradians*)的清滤率为指标, 发现重金属镉、锌对海湾扇贝清滤率的 LC_{50} 分别为0.189和1.10 mg/L, 结果表明锌较镉对海湾扇贝有较小的毒性. 周凯等^[27]研究了海水中锌、镉对青蛤(*Cyclina sinensis*)幼贝的96 h LC_{50} 分别为160和14 mg/L. 在水生生物不同生长阶段, 重金属的毒性大

小顺序可能出现差异,如对鱼卵孵化的毒性顺序为锌>镉;而对幼鱼成活的毒性顺序为镉>锌^[28]。但本实验中所用文昌鱼作为成鱼,却显示出对锌具有更高的敏感性,而且文昌鱼对锌的耐受性也比其他鱼贝类小,这些仍需进行进一步探讨和研究。

先前的研究表明重金属可显著抑制 AChE 的活性^[29],AChE 活性的抑制可能会引起神经或肌肉纤维处于持续的过分应激状态,继而导致肌肉抽搐、麻痹甚至坏死等。在实验过程中,我们发现在暴露后期,实验组中的文昌鱼少数已出现身体弯曲,腹部发红,刺激后肌肉颤动等现象。而酶活力数据显示,在金属暴露过程中,鱼体内的 AChE 活性随暴露时间延长持续下降,至第 7 天时 AChE 活性与对照组差异达到极显著($p < 0.01$),显示即使是理论上安全浓度的金属溶液,在持续暴露情况下,对文昌鱼神经方面的毒害效应仍然是非常显著的。Najimi 等^[30]报道,重金属(铜、镉、铁和锌)可抑制贻贝体内 AChE 活性,现场研究发现,贻贝属(*Mytilus*)的生物体内 AChE 活性的降低可指示重金属污染程度^[31]。本研究表明,在文昌鱼中,镉、锌主要是通过抑制 AChE 的活性而发挥其毒性效应;而且在锌暴露过程中,文昌鱼体内的 AChE 活性处于更多的抑制状态,表明文昌鱼的神经、肌肉纤维对锌更敏感。

重金属可诱导生物体内活性氧的产生,继而引发细胞的广泛损伤如脂质过氧化作用和基因毒性,许多研究表明^[32-34]镉可能通过生物体内重要酶(抗氧化酶、ATPase 等)的直接抑制,从而诱导氢氧自由基、超氧化物阴离子、过氧化氢等活性氧的产生,且可显著提高小鼠(*Mus musculus*)肝脏的脂质过氧化水平而产生毒害作用。在本实验中,理论上安全浓度的镉、锌暴露即能诱导文昌鱼体内的 MDA 水平,即实验组 MDA 水平均显著高于对照组。同时,MDA 水平在暴露第 1 天时即被镉显著诱导且处于最高值,而锌暴露实验中,其峰值出现在暴露的第 3 天,而整个过程的 MDA 水平均显著小于镉的影响,结果显示不同种类金属对文昌鱼体内 MDA 水平的影响不同。

从 2 种金属暴露后的文昌鱼体内 MDA 水平可以看出,文昌鱼已发生脂质过氧化作用;而用以清除活性氧的 SOD 并未出现显著的诱导,在暴露第 3 天时反被显著抑制,之后慢慢恢复。可能原因是安全浓度的金属还未能显著诱导 SOD 活性,但随着暴露时间的延长,文昌鱼体内 SOD 增加,其产生速度大于清除速度,造成过氧化氢在体内过量积累,而且过多的过氧化氢可

能会降低 SOD 活性,导致 SOD 活性被显著抑制。结果表明文昌鱼抗氧化能力已受到一定影响,即使是理论上安全浓度的镉、锌对其抗氧化系统也会造成一定的损伤。

ACP、AKP 广泛存在于各种生物体内,具有机体防御、免疫调节、离子分泌等重要的生理作用。文昌鱼作为进化模式生物,其体内也具有这 2 种磷酸酶。王锐等^[14]报道了在文昌鱼消化道、生殖腺、表皮和内皮中均分布有 AKP。作为与免疫应激相关的酶类,也曾有以此酶类为监测对象的相关毒性实验报道。王玲等^[24]研究了有机物六溴环十二烷(HBCD)对文昌鱼的机体氧化损伤,其体内的 ACP、AKP 活性在低浓度受到了显著的促进作用,在中浓度时被抑制,然后随浓度升高酶活升高。实验表明文昌鱼在低浓度的 HBCD 刺激下其 ACP、AKP 表现出一定的应激反应,这与本实验的结果一致。白秀娟等^[21]的实验表明,在一定浓度的铜、锌、镉暴露下文昌鱼的 ACP 及 AKP 表现为显著抑制。由此可见在应对重金属和有机物等污染物刺激时,文昌鱼体内的 ACP、AKP 能发生显著的变化,以作为免疫应激的生化指标。

随着城市化建设进程的加快,厦门附近海域受到的人为干扰及污染物也越来越多,作为著名的文昌鱼产地,厦门文昌鱼正在日益减少。除了文昌鱼的栖息地遭受破坏外,海水中重金属含量的增加也可能是对其产生影响的原因之一。本实验表明,在安全浓度的 7 d 暴露中,文昌鱼的神经系统、抗氧化能力及免疫相关酶活性均受到不同程度的抑制及影响,在文昌鱼长期生活的近海海域,金属污染物长期暴露对文昌鱼的免疫功能逐渐产生毒害,进而影响其生长发育和繁殖。鉴于文昌鱼对镉、锌的高度敏感性,将其作为监测海域金属污染的指示生物是可能的。

参考文献:

- [1] 黄秋蝉,韦友欢,黎晓峰.镉对人体健康的危害效应及其机理研究进展[J].安徽农业科学,2007,35(9):2528-2531.
- [2] Asmuss M, Mullenders L H, Eker A, et al. Differential effects of toxic metal compounds on the activities of fpg and XPA, two zinc finger proteins involved in DNA repair[J]. Carcinogenesis, 2000, 21: 2097-2104.
- [3] 刘慧,王晓蓉,王为木,等.低浓度锌及其 EDTA 配合物长期暴露对鲫鱼肝脏锌富集及抗氧化系统的影响[J].环境科学,2005,26(1):173-176.
- [4] Carajaville M P, Bebianno M J, Blasco J, et al. The use of

- biomarkers to assess the impact of pollution in coastal environment of the iberian peninsula; a practical approach [J]. The Science of the Total Environment, 2000, 247: 295-311.
- [5] Goksoyr A, Beyer J, Egaas E, et al. Biomarker responses in founder (*Platichthys flesus*) and their use in pollution monitoring [J]. Marine Pollution Bulletin, 1996, 33: 36-45.
- [6] 钱湛, 孙建, 铁柏清, 等. 铜、镉、砷单一及其复合污染对浮萍的毒性效应 [J]. 中国生态农业学报, 2006, 14(3): 135-137.
- [7] 孙虎山, 李光友. 栉孔扇贝血淋巴中 ACP 和 AKP 活性及其电镜细胞化学研究 [J]. 高技术通讯, 1999, 12(5): 99-102.
- [8] 贾秀英, 董爱华. Cd Cr(VI) 及其复合污染对鲫鱼脑组织乙酰胆碱酯酶活性的影响 [J]. 农业环境科学学报, 2003, 22(3): 337-339.
- [9] 王晶, 周后星, 张倩茹, 等. 沙蚕暴露于石油烃、 Cu^{2+} 和 Cd^{2+} 毒性效应及乙酰胆碱酯酶活性的响应 [J]. 环境科学, 2007, 28(8): 1796-1801.
- [10] Borg D C, Schaich K M. Cytotoxicity from coupled redox cycling of autooxidizing xenobiotics and metals [J]. Israel J Chem, 1984, 24: 38-53.
- [11] Venugopal N B R K, Ramesh T V D D, Reddy D S, et al. Effect of cadmium on antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation in a freshwater field crab, *Barytelphusa guerini* [J]. Bull Environ Contam Toxicol, 1997, 59: 132-138.
- [12] Mc Cord J M, Fridovich I. Superoxide dismutase an enzymic function for erythrocuprein (hemocuprein) [J]. J Biol Chem, 1969, 244: 60409-60455.
- [13] 张辉, 张海莲. 碱性磷酸酶在水产动物中的作用 [J]. 河北渔业, 2005, 5: 12-13.
- [14] 王锐, 张士瑾. 碱性磷酸酶在文昌鱼体内的分布 [J]. 青岛海洋大学学报, 2001, 31(1): 81-84.
- [15] 孙建梅, 张士瑾, 王勇军. 酸性磷酸酶在文昌鱼体内的分布 [J]. 海洋水产研究, 2006, 27(4): 17-20.
- [16] 张士瑾, 袁金铎, 李红岩. 文昌鱼——研究脊椎动物起源和进化的模式动物 [J]. 生命科学, 2001, 13(5): 214-218.
- [17] 梁萍, 方永强, 洪桂英, 等. 硒对文昌鱼的毒性效应和生长的影响 [J]. 台湾海峡, 1989, 8(2): 156-161.
- [18] 林加涵, 林海宁, 黄志斌, 等. 铬对文昌鱼的毒性效应和生长的影响 [J]. 台湾海峡, 1998, 17(2): 134-138.
- [19] 吴贤汉, 江新霁, 张宝录, 等. 几种重金属对青岛文昌鱼毒性及生长的影响 [J]. 海洋与湖沼, 1999, 30(6): 604-608.
- [20] 白秀娟, 卢伙胜, 廖春风. 文昌鱼对几种环境因子及污染物的耐受极限初步研究 [J]. 广东海洋大学学报, 2007, 27(1): 92-94.
- [21] 白秀娟, 卢伙胜, 唐峰华. Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 和 Cd^{2+} 对茂名海域文昌鱼酸、碱性磷酸酶的影响 [J]. 水产科学, 2009, 28(9): 513-517.
- [22] 韩莉, 郭斌, Bhattacharya H. 亚致死剂量铜对文昌鱼和玫瑰无须鲷的组织病理学影响 [J]. 中国海洋大学学报, 2008, 38(1): 95-102.
- [23] Bhattacharya H, Zhang S, Xiao Q. Comparison of histopathological alterations due to sublethal CCl_4 on rosy barb (*Puntius conchoni*) and amphioxus (*Branchiostoma belcheri*) with implications of liver ontogeny [J]. Toxicology Mechanisms and Methods, 2008, 18(8): 627-633.
- [24] 王玲, 郑明刚, 全艳丽, 等. 六溴环十二烷 (hexabromocyclododecane, HBCD) 暴露对生长阶段文昌鱼的毒性及其几种重要酶活性的影响 [J]. 环境科学学报, 2011, 31(5): 1086-1091.
- [25] 王瑞龙, 马广智, 方展强. 铜、镉、锌对唐鱼的急性毒性及安全浓度评价 [J]. 水产科学, 2006, 25(3): 117-120.
- [26] 颜天, 傅萌, 刘红, 等. 双壳类清滤率在海洋污染物毒性研究中的应用 [J]. 海洋科学, 2003, 27(1): 50-53.
- [27] 周凯, 么宗利, 来琦芳, 等. 重金属 Zn^{2+} 、 Cd^{2+} 对青蛤幼贝的致毒效应 [J]. 海洋渔业, 2007, 29(1): 63-67.
- [28] 崔可铎, 刘玉海, 侯兰英. 汞等六种重金属对鱼卵孵化和幼鱼成活的影响 [J]. 海洋与湖沼, 1987, 18(2): 138-144.
- [29] Elumalai M, Antunes C, Guilhermino L. Single metals and their mixtures on selected enzymes of *Carcinus maenas* [J]. Water Air Soil Pollut, 2002, 141: 273-280.
- [30] Najimi S, Bouhaimi A, Daubèze M, et al. Use of acetylcholinesterase in *Perna perna* and *Mytilus galloprovincialis* as a biomarker of pollution in agadir marine bay (South of Morocco) [J]. Bull Environ Contam Toxicol, 1997, 58: 901-908.
- [31] Dellali M, Gnassia Barelli M, Romeo M, et al. The use of acetylcholinesterase activity in *Ruditapes decussates* and *Mytilus galloprovincialis* in the biomonitoring of bizerta lagoon [J]. Comp Biochem Physiol Part C, 2001, 130: 227-235.
- [32] Xiang L X, Shao J Z. Role of intracellular Ca^{2+} , reactive oxygen species, mitochondria transmembrane potential and antioxidant enzymes in heavy metal-induced apoptosis in fish cells [J]. Bull Environ Contam Toxicol, 2003, 71: 114-122.
- [33] O'Brien P, Salacinski H J. Evidence that the reactions of cadmium in the presence of metallothionein can produce hydroxyl radicals [J]. Arch Toxicol, 1998, 72: 690-700.
- [34] Stochs S J, Bagchi D, Hassoun E, et al. Oxidative mechanisms in the toxicity of chromium and cadmium ions [J]. J Environ Pathol Toxicol Oncol, 2001, 20: 77-88.

Effect of Sublethal Cd and Zn on Selected Enzymes and Accumulation of Amphioxus *Branchiostoma belcheri*

LU Bin, KE Cai-huan*, WANG Wen-xiong

(College of Ocean and Earth Sciences, Xiamen University, Xiamen 361005, China)

Abstract: This study was quantified the effects of Cd and Zn on some selected enzymes activities of amphioxus after 7 d of sublethal exposure. The results of acute toxicity experiments showed that the 96 h LC_{50} of Cd and Zn for amphioxus were 4.60 and 2.26 mg/L, respectively. After seven days of exposure to sublethal Cd and Zn, the Cd concentration in the amphioxus increased linearly, whereas the Zn concentrations did not change, suggesting that amphioxus regulated Zn uptake from the ambient water. Compared to the control, the AChE of amphioxus decreased gradually and was inhibited by 65% and 79% for Cd and Zn, respectively, during seven days of exposure. The MDA level increased significantly at the beginning of exposure. SOD was significantly inhibited after three days of exposure to Cd and Zn, while AKP was induced within the first day of exposure and then decreased to the normal level. Zn had no significant effect on ACP of amphioxus, but Cd significantly increased its activity after one day of exposure. Even safe concentrations of Cd and Zn damaged the defense system of amphioxus during the long term exposure.

Key words: amphioxus; Cd; Zn; AChE; SOD; MDA; AKP; ACP

• 简 讯 •

厦门大学 2011—2012 年发表在《Science》、《Nature》及其子刊上的论文

单位	论文题目	刊名	通信作者	发表时间
海洋与地球学院	Increasing the microbial carbon sink in the sea by reducing chemical fertilization on the land	Nature Reviews Microbiology	焦念志	2011
海洋与地球学院	The microbial carbon pump and the oceanic recalcitrant dissolved organic matter pool	Nature Reviews Microbiology	焦念志	2011
生命科学学院	Inactivation of Rheb by PRAK-mediated phosphorylation is essential for energy-depletion-induced suppression of mTORC1	Nature Cell Biology	韩家淮	2011
生命科学学院	Programmed necrosis: backup to and competitor with apoptosis in the immune system	Nature Immunology	韩家淮	2011
化学化工学院	Carbon arc production of heptagon-containing fullerene[68]	Nature Communications	谢素原	2011
化学化工学院	Revealing the molecular structure of single-molecule junctions in different conductance states by fishing-mode tip-enhanced Raman spectroscopy	Nature Communications	任斌	2011
化学化工学院	Confined propagation of covalent chemical reactions on single-walled carbon nanotubes	Nature Communications	邓顺柳*	2011
化学化工学院	Quadruple bonding in C ₂ and analogous eight-valence electron species	Nature Chemistry	吴玮*	2012
物理与机电工程学院	Thermal conductivity of isotopically modified graphene	Nature Materials	蔡伟伟	2012
海洋与地球学院	Rising CO ₂ and increased light exposure synergistically reduce marine primary productivity	Nature Climate Change	高坤山	2012
生命科学学院	GSK3-TIP60-ULK1 signaling pathway links growth factor deprivation to autophagy	Science	林圣彩	2012

注: * 为第二完成单位。

厦门大学科技处